



УДК 582.263:577.115

И. Н. Чубчикова, м.н.с.

Институт биологии южных морей им. А. О. Ковалевского Национальной академии наук Украины, Севастополь, Украина

ВЛИЯНИЕ СОСТАВА СРЕДЫ НА СОДЕРЖАНИЕ ВТОРИЧНЫХ КАРОТИНОИДОВ У МИКРОВОДОРОСЛИ *SCOTIELLOPSIS RUBESCENS* (CHLOROPHYCEAE)

Выявлены особенности накопления кетокаротиноидов в клетках зелёной микроводоросли *Scotiellopsis rubescens* Vinatz. в зависимости от состава среды на стадии вторичного каротиногенеза при выращивании методом двухстадийной накопительной культуры. Наличие в среде небольших количеств азота и фосфора ($4 - 5 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$) на 1 – 2 порядка снижает потери численности клеток в результате стресс-воздействия, инициирующего вторичный каротиногенез, в 3 – 4 раза ускоряет накопление суммарных каротиноидов, в 2 и более раза повышает их содержание в клетках и культурах и увеличивает относительное содержание астаксантина и его ближайших предшественников (адониксантина и кантаксантина) в общем пуле каротиноидов.

Ключевые слова: *Scotiellopsis rubescens*, вторичный каротиногенез, астаксантин, адониксантин, кантаксантин

Scotiellopsis rubescens Vinatz. относится к экологической группе зелёных микроводорослей, объединяющей представителей разных таксономических подразделений, способных выживать в неблагоприятных условиях за счёт гиперсинтеза вторичных каротиноидов. Эта особенность делает его перспективным объектом исследований, направленных на поиск новых источников высоко ценных природных кетокаротиноидов (ККР) и изучение особенностей вторичного каротиногенеза (ВКРГ) в условиях искусственного стресса у видов с наиболее высоким выходом конечного продукта для оценки потенциальных возможностей вида как объекта массового культивирования [3]. В скрининговом эксперименте [5] установлено, что продуктивность культур *S. rubescens* по суммарным каротиноидам ($\Sigma\text{КР}$) при двухстадийной технологии выращивания составляет не менее $2 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$ при их содержании в сухой биомассе более 2 %. Относительное содержание кетокаротиноидов в $\Sigma\text{КР}$ достигает 92 %, причём на долю наиболее ценных каротиноидов астаксантина (АСТ) и кантаксантина (КАН) приходится до 70 % от $\Sigma\text{КР}$. Ещё одной важной характеристикой вида является его высокая устойчивость к совместному действию таких индукторов вторичного каротиногенеза, как высокая температура (до $39 - 44^\circ\text{C}$) и инсоляция (до $1100 \text{ мЕ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$) [4].

На некоторых видах зелёных микроводорослей нами показано, что одним из наиболее эффективных способов инициирования биосинтеза АСТ в клетках продуцентов ККР является 5 – 10-кратное разбавление культур средой, существенно редуцированной по азоту (до концентрации $\approx 5 - 10 \text{ мг N} \cdot \text{л}^{-1}$) в комплексе с 2-кратным увеличением освещённости и добавлением в среду ацетата (NaAc) и хлорида натрия (NaCl) [3]. Необходимость присутствия азота в среде в субоптимальных концентрациях (ниже области величин, оптимальных для роста) для массивного накопления АСТ в клетках продуцентов ККР показана на примере *Haematococcus pluvialis* [8]. Тем не менее, эти же авторы, запатентовавшие первую промышленную технологию выращивания *H. pluvialis* для получения АСТ, на практике осуществляют перевод культур на стадию ВКРГ путём 3 – 5-кратного разведения суспензии клеток водопроводной водой без обогащения её макро- и микроэлементами (МЭ) [7]. Анализ возможности применения такого «экономичного» подхода к выращиванию *S. rubescens* и являлся основной задачей данной работы. Её решение предполагало определение продукционных характеристик культур *S. rubescens* в различных условиях минерального обеспечения на втором этапе двухстадийного культивирования – стадии индуцированного вторичного каротиногенеза, и оценку возможности

оптимизации условий на этой стадии по выходу Σ KP и АСТ.

Материал и методы. В работе использовали штамм *Scotiellopsis rubescens* IPPAS Н-350 (= IBSS-12), переданный в ИнБИОМ НАНУ из Института физиологии растений РАН. Водоросль выращивали методом двухстадийной накопительной культуры [3]. На I стадии условия культивирования были следующими: питательная среда ВВМ 3N [6], одностороннее боковое освещение люминесцентными лампами «Fegon» (DL 20W T4 6400K), интенсивность ФАР (E) на поверхности колб $60 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{c}^{-1}$, фотопериод 15 ч свет : 9 ч темнота, температура среды 22 – 24°C, скорость продувки воздухом – 0.3

л·мин⁻¹·л⁻¹. Продолжительность I стадии – 21 сут. Перевод культуры на II стадию осуществляли путём резкого изменения ряда физико-химических параметров культивирования: увеличения облучённости клеток, создания дефицита азота и фосфора и, как следствие, изменения отношения C/N в среде. Для этого равные аликвоты культуры, полученной в конце I, «зелёной», стадии, разбавили в 15 раз дистиллированной водой или в той или иной степени редуцированной средой ВВМ (табл. 1) и перевели на круглосуточное двухстороннее освещение при E = $140 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{c}^{-1}$ с каждой стороны. Температура среды при этом повысилась до 26 – 28 °C.

Табл. 1 Способы разбавления культур для индукции вторичного каротиногенеза в клетках *Scotiellopsis rubescens*

Table 1 Mode of culture dilution to induce the secondary carotenogenesis in *Scotiellopsis rubescens* cells

№ варианта	Способ разбавления культуры	Начальная концентрация азота (N) и фосфора (P) в среде, мг·л ⁻¹
1	H ₂ O дистиллированная (Дист. H ₂ O)	0
2	H ₂ O дистиллированная + МЭ как в среде ВВМ (Дист. H ₂ O + МЭ)	0
3	Среда ВВМ, 10-кратно редуцированная по N с полным содержанием P и МЭ (ВВМ: 1/10 N + P + МЭ)	N – 4.1 P – 53.2
4	Среда ВВМ, 10-кратно редуцированная по N и P с полным содержанием МЭ (ВВМ: 1/10 N + 1/10 P + МЭ)	N – 4.1 P – 5.3
5	Среда ВВМ, 10-кратно редуцированная по N и P без МЭ (ВВМ: 1/10 N + 1/10 P без МЭ).	N – 4.1 P – 5.3

Скорость продувки культур воздухом, обогащённым CO₂ (0.3 % v/v), увеличили до 1.3 л·мин⁻¹·л⁻¹ культуры. Для интенсификации каротиногенеза во все колбы внесли NaAc и NaCl до конечной концентрации соответственно 0.05 и 0.2 М [3]. Начальная численность клеток в вариантах опыта варьировала в пределах $(1.74 - 2.04) \cdot 10^9$ кл.·л⁻¹. При таком режиме *S. rubescens* выращивали в течение 6 сут. в стеклянных конических колбах объёмом 0.1 л при объёме культур 0.07 л.

Численность клеток (N) определяли в камере Горяева, содержание сухого вещества (СВ) – высушиванием биомассы на нитроцеллюлозных мембранных фильтрах «Sartorius» (3 мкм) в вакуум-сушильном шкафу при температуре 80°C.

Содержание Σ KP определяли по [13] на спектрофотометре СФ-46 (ЛОМО). Фракционный состав KP анализировали методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) по [2]. Для расчёта содержания отдельных фракций использовали следующие коэффициенты удельной экстинкции: для АСТ =

2177.4 [10], всех остальных КKP – 2200 [9], β-каротина – 2500, лютеина – 2550 [11].

Данные, приведенные в работе, являются средними (\bar{x}) из двух биологических и 4 – 6 аналитических повторностей. Их вариабельность характеризуется выборочным стандартным отклонением (s).

Результаты и обсуждение. В первые двое суток во всех пяти культурах, независимо от способа разбавления, началось активное деление клеток с образованием автоспор [1], в результате чего численность клеток увеличилась. В дальнейшем деление клеток постепенно прекратилось, часть из них погибла (рис. 1). Тем не менее, наличие небольших количеств азота и фосфора в среде существенно повышает устойчивость *S. rubescens* к действию стрессующих факторов: максимальное снижение численности по отношению к начальной (на 17 – 21 %) зарегистрировано при разбавлении

культуры дистиллированной водой, тогда как при разбавлении средой ВВМ, редуцированной только по азоту, количество клеток в конце стадии ВКРГ оставалось практически равным начальному. В культурах, разбавленных средой ВВМ, редуцированной не только по азоту, но и по фосфору (независимо от наличия МЭ), потери численности достигли $\approx 9\%$ от начальной. Наличие в среде субоптимальных количеств N и P ($4 - 5 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$) не только вдвое сократило снижение численности по сравнению с разбавлением водой, но и способствовало существенному увеличению продуктивности культур по $\Sigma\text{КР}$. В культуре, стрессированной путём разбавления средой ВВМ, редуцированной только по азоту (вар. № 3), среднесуточная скорость накопления $\Sigma\text{КР}$ была почти в 5 раз выше, чем в культуре, разведенной H_2O дист. и испытывающей острый дефицит макро- и микроэлементов (вар. № 1). Существенно выше здесь (\approx в 2 раза) и содержание $\Sigma\text{КР}$ в конце стадии ВКРГ в расчёте на единицу объёма культуры и

отдельную клетку (рис. 2).

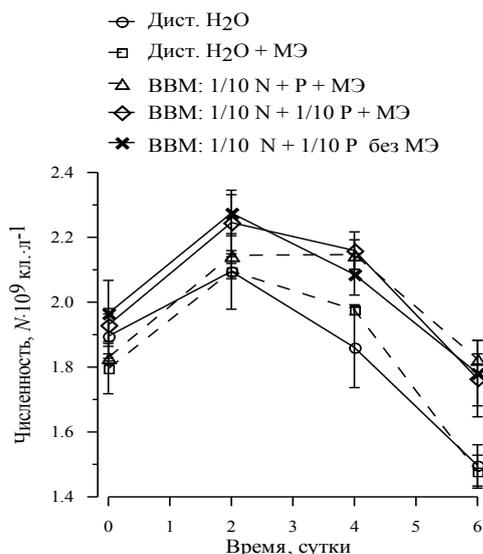


Рис. 1 Динамика численности клеток *Scotiellopsis rubescens* в зависимости от состава среды на стадии вторичного каротиногенеза ($\bar{x} \pm s$)

Fig. 1 The dynamics of cell number of *Scotiellopsis rubescens* depending on the medium composition during the secondary carotenogenesis stage ($\bar{x} \pm s$)

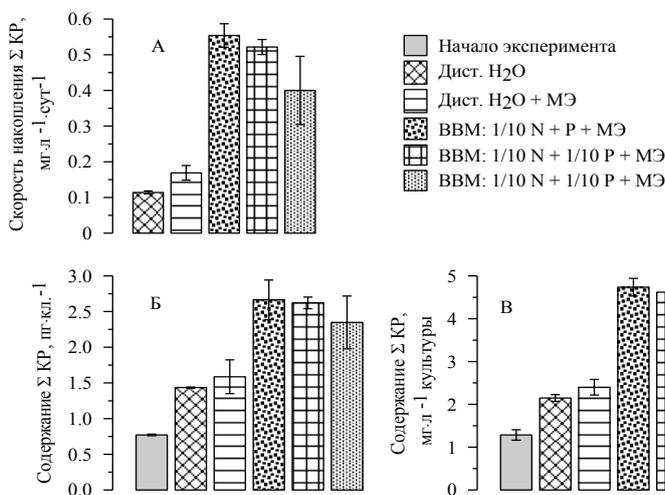


Рис. 2 Скорость накопления суммарных каротиноидов (А) и их содержание в клетках (Б) и культурах (Б) *Scotiellopsis rubescens* в начале и в конце стадии вторичного каротиногенеза ($\bar{x} \pm s$)

Fig. 2 Total carotenoids accumulation rate (A) and its content in cells (B) and culture (B) of *Scotiellopsis rubescens* at the beginning and at the end of secondary carotenogenesis stage ($\bar{x} \pm s$)

Десятикратное снижение в среде ВВМ концентрации фосфора при наличии небольшого количества азота и микроэлементов не сказывалось на скорости накопления $\Sigma\text{КР}$ и их содержании в культурах и клетках *S. rubescens*. В то же время при недостатке МЭ проявлялась выраженная, хотя и статистически не значимая, тенденция к угнетению биосинтеза ККР (вар. № 1 – 2 и № 4 – 5). Так, добавление МЭ в к ди-

стиллированной воде (вар. № 2) более чем на 40 % повысило выход $\Sigma\text{КР}$ по отношению к вар. № 1 (разбавление водой без добавок). Менее значительное, но все же весомое увеличение выхода $\Sigma\text{КР}$ (на 23 %) отмечено и в вар. № 4 (ВВМ: 1/10 N + 1/10 P + МЭ) по сравнению с вар. № 5, аналогичным по концентрации N и P, но не содержащим МЭ (рис. 3).

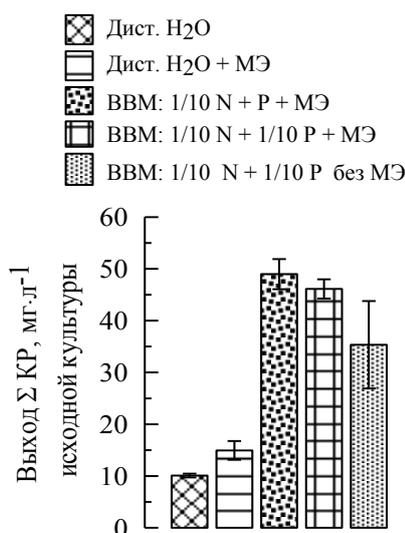


Рис.3 Выход суммарных каротиноидов из литра исходной культуры *Scotiellopsis rubescens* (с численностью клеток $2.66 \cdot 10^{10}$ кл. · л⁻¹) за 6 суток в зависимости от состава среды ($\bar{x} \pm s$)

Fig. 3 Yield of total carotenoids from litre of initial culture *Scotiellopsis rubescens* (with cell number $2.66 \cdot 10^{10}$ cells · l⁻¹) for 6 days due to medium composition ($\bar{x} \pm s$)

В литературе имеются сведения о характере влияния состава и концентрации отдельных МЭ в питательных средах на метаболизм микроводорослей-продуцентов ККР. Так, в [12] показано, что внесение в среду ионов

Fe⁺² активизирует биосинтез АСТ у *H. pluviallis*. Для этого же вида установлено, что при миксотрофном выращивании водоросли на ацетате обогащение питательных сред МЭ увеличивает содержание АСТ в биомассе в 1.5 – 2 раза [14].

Максимальный выход ΣКР из литра исходной культуры с плотностью $2.66 \cdot 10^{10}$ кл. · л⁻¹ за 6 суток, зарегистрированный в вар. № 3 и 4 (48.99 ± 2.90 и 46.13 ± 1.85 мг · л⁻¹), явился результирующей двух составляющих: наименьшего отхода клеток в постстрессорный период и наиболее высокой скорости накопления в них ΣКР (рис. 3).

В формирующихся акинетах [1] параллельно накоплению каротиноидов интенсивно накапливалось сухое вещество. Зависимость между содержанием СВ и ΣКР в клетках *S. rubescens* имеет линейный характер (рис. 4 А). За 6 суток содержание СВ в клетках культур, разбавленных Н₂О дист., выросло в 2.4 раза, а в вариантах, разведённых средой ВВМ – в 3.3 – 4.2 раза (рис. 4 Б). Относительное содержание ΣКР в сухой биомассе, полученной в разных вариантах эксперимента, было сходным и варьировало в пределах 0.9 – 1.1% СВ.

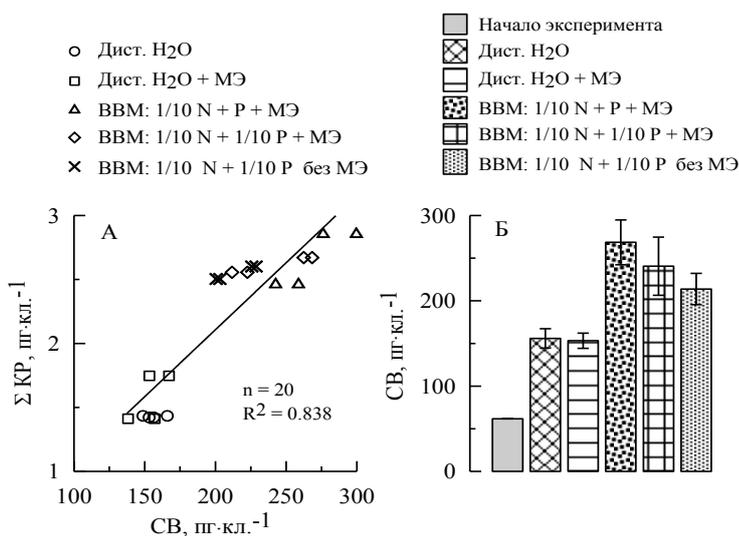


Рис.4 Зависимость между содержанием сухого вещества и суммарных каротиноидов в клетках *Scotiellopsis rubescens* (А) и содержание сухого вещества в клетках в начале и в конце стадии ВКРГ (Б) ($\bar{x} \pm s$)

Fig. 4 Relationship between dry weight and total carotenoids content in cells of *Scotiellopsis rubescens* (А) and dry weight content in cells at the beginning and at the end of secondary carotenogenesis stage (Б) ($\bar{x} \pm s$)

На 6-е сутки эксперимента клетки *S. rubescens* во всех вариантах разбавления были окрашены в оранжево-красный цвет кетокаротиноидами. Их доля в общем пуле КР состав-

ляла 80 – 90 % в зависимости от наличия макро- и микроэлементов в питательной среде (табл. 2).

Табл. 2 Фракционный состав каротиноидов биомассы *Scotiellopsis rubescens* на 6-е сутки стадии ВКРГ в зависимости от способа разведения культуры ($\bar{x} \pm s$)
 Table 2 Carotenoid fractions of *Scotiellopsis rubescens* biomass at 6-th day of secondary carotenogenesis depending on the mode of culture dilution ($\bar{x} \pm s$)

Наименование фракций КР	Относительное содержание фракций, % от Σ КР				
	Варианты эксперимента				
	1	2	3	4	5
Моноэфиры АСТ	14.58 ± 1.99	19.73 ± 5.85	24.63 ± 6.57	15.47 ± 0.96	20.72 ± 2.99
Диэфиры АСТ	5.89 ± 1.15	7.16 ± 1.03	9.53 ± 0.49	8.56 ± 0.18	9.40 ± 0.61
КАН	8.71 ± 0.45	9.82 ± 1.82	12.04 ± 1.98	9.17 ± 1.07	10.40 ± 1.35
Моноэфиры АДК	9.82 ± 0.45	9.22 ± 0.52	11.60 ± 3.08	11.06 ± 2.20	9.08 ± 0.13
Свободные АСТ и АДК	5.78 ± 0.34	8.44 ± 1.34	7.49 ± 3.45	7.03 ± 0.17	8.07 ± 1.20
Сумма неидентиф. ККР и минорных первичных КР	21.90 ± 1.27	17.58 ± 3.45	18.19 ± 0.41	16.75 ± 0.97	14.37 ± 1.34
Сумма ККР	82.96 ± 1.64	86.45 ± 3.69	89.79 ± 1.65	87.27 ± 1.60	80.95 ± 1.50
Лютеин	10.47 ± 1.19	8.00 ± 2.46	5.55 ± 1.58	6.03 ± 0.32	5.76 ± 0.54
β -каротин	4.01 ± 0.75	3.20 ± 0.13	3.80 ± 1.00	3.97 ± 0.88	11.19 ± 1.61

Как и в предыдущих экспериментах [4, 5], в красных акинетах скотиеллопсиса присутствовали первичные каротиноиды лютеин и β -каротин. В составе вторичных каротиноидов преобладали астаксантин (АСТ) в виде моно- и диэфиров, эфиры адониксантина (АДК) и кантаксантин (КАН) с явным преобладанием АСТ. Помимо эфиров, присутствовали незначительные количества неэстерифицированных форм АСТ и АДК. Отмеченная нами [4] многокомпонентность каротиноидного состава указывает на одновременное функционирование у *S. rubescens* нескольких метаболических путей трансформации β -каротина в астаксантин и, возможно, характерна для этого вида [3]. Состав среды существенно повлиял на полноту превращения β -каротина в ККР. Максимум суммы обеих эстерифицированных форм АСТ (34.2 % от Σ КР) зарегистрирован при разбавлении исходной культуры средой ВВМ, редуцированной только по азоту, минимум (20.5% от Σ КР) – в культуре, разбавленной дистиллированной водой. Аналогичная тенденция отмечена и для двух других весомых фракций – КАН и моноэфиров АДК. Разница между вариантами с полным и редуцированным содержанием фосфора в среде недостоверна.

Низкие значения доли эфиров АСТ по сравнению с величинами, зарегистрированными нами ранее (до 60 % от Σ КР) [4], указывают

на неполноту трансформации интермедиатов метаболического пути в его конечный продукт. Одной из вероятных причин столь невысокого содержания эфиров АСТ – непродолжительность «красной» стадии культивирования в настоящем эксперименте. Такое предположение подтверждают результаты, полученные ранее в условиях, сходных с вар. № 3: при продлении стадии ВКРГ с 8 до 14 суток содержание Σ КР в клетках *S. rubescens* увеличилось на 38 % [5].

Различия в составе питательной среды существенно повлияли не только на соотношение фракций ККР, но и на их содержание в расчёте на клетку и единицу объёма культуры (рис. 5). Содержание наиболее ценных в практическом отношении фракций (эфиров АСТ и АДК, а также КАН) в клетках и в культурах *S. rubescens* при разбавлении редуцированной средой ВВМ (вар. № 3 – № 5) было в 2 – 3 раза выше, чем при разбавлении дистиллированной водой (вар. № 1 и № 2).

Выводы. При выращивании зелёной микроводоросли *S. rubescens* методом двухстадийной накопительной культуры для получения кетокаротиноидов наиболее результативным вариантом перевода культур на стадию индуцированного ВКРГ является разбавление суспензии клеток питательной средой ВВМ, редуцированной по азоту и фосфору до концентрации 4 – 5 мг·л⁻¹. Наличие небольших

количеств этих биогенных элементов увеличивает общий выход каротиноидов в 4 раза (за счёт снижения потерь биомассы и увеличения скорости накопления пигментов), а также способствует более полной трансформации β -

каротина в кетокаротиноиды, что повышает биологическую ценность биомассы по содержанию в ней наиболее ценных антиоксидантов – астаксантина и кантаксантина.

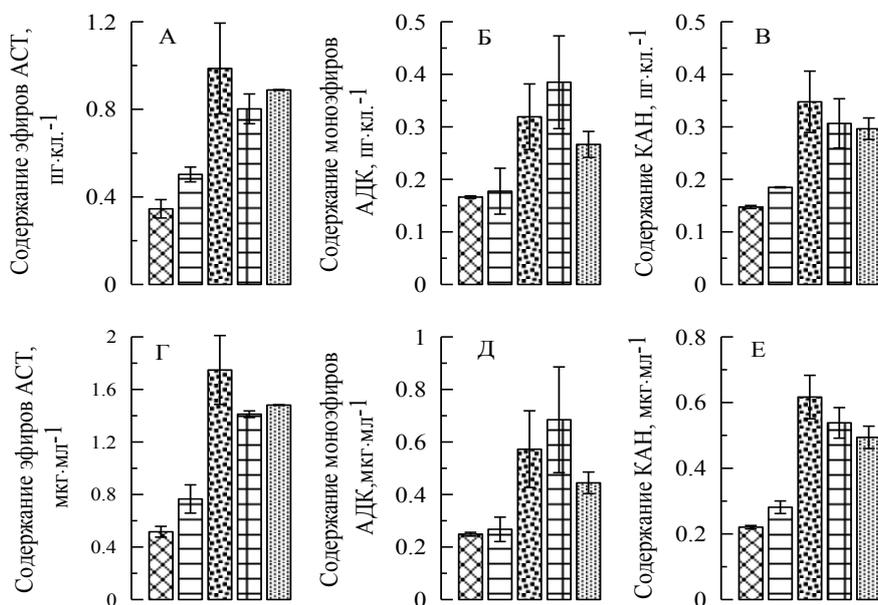


Рис.5 Содержание основных фракций кетокаротиноидов в клетках (А – В) и культуре (Г – Е) *Scotiellopsis rubescens* в конце стадии вторичного каротиногенеза в зависимости от состава среды ($\bar{x} \pm s$). Обозначения, как на рис. 4

Fig. 5 Main ketocarotenoid fractions content in cells (A – B) and cultures (Г – Е) of *Scotiellopsis rubescens* at the end of secondary carotenogenesis stage depending on medium composition ($\bar{x} \pm s$). The symbols are the same as in fig. 4

1. Андреева В. М. Почвенные и аэрофильные зеленые водоросли (Chlorophyta: Tetrasporales, Chlorococcales, Chlorocarcinales). – СПб.: Наука, 1998. – 351 с.
2. Дробецкая И. В., Чубчикова И. Н., Боровков А. Б., Минюк Г. С. Определение содержания астаксантина и кантаксантина у зелёных микроводорослей методом тонкослойной хроматографии // Экология моря. – 2009. – Вып. 79. – С. 50 – 56.
3. Минюк Г. С., Дробецкая И. В., Чубчикова И. Н. и др. Скрининг зелёных микроводорослей как потенциальных источников природных кетокаротиноидов. Актуальность, стратегия и тактика исследований // Экология моря. – 2010. – Спец. вып. 80: Биотехнология водорослей. – С. 67 – 78.
4. Чубчикова И. Н., Минюк Г. С. Дробецкая И. В. Вторичный каротиногенез у зелёной микроводоросли *Scotiellopsis rubescens* Vinatz. в условиях природных освещённости и температуры // Экология моря. – 2010. – Спец. вып. 81: Управление биосинтезом гидробионтов. – С. 77 – 81.
5. Чубчикова И. Н., Минюк Г. С. Дробецкая И. В., Данцюк Н. В. Хлорококковые микроводоросли как потенциальный источник природных кетокаротиноидов // Экология моря. – 2009. – Вып. 77. – С. 77 – 83.
6. Bold H. C. The cultivation of algae // Bot. Rev. – 1942. – 8. – P. 69 – 138.
7. Boussiba S., Vonshak A. Astaxanthin accumulation in the green alga *Haematococcus pluvialis* // Plant Cell Physiol. – 1991. – 32, No 7. – P. 1077 – 1082.
8. Boussiba S., Vonshak A., Cohen Z., Richmond A. Procedure for large-scale production of astaxanthin from *Haematococcus*. – US Patent: 6022701 A. – 2000.
9. Chapman D. J. Formation and analysis of secondary carotenoids // Experimental phycology. A laboratory manual. – Cambridge Univ. Press, 1988. – P. 104 – 110.
10. Deviation of astaxanthin light absorption coefficients in different solvents // Technical report 1004.001. – Aquasearch Inc., 1999. – <http://www.fda.gov>.
11. Jeffrey S.W., Mantoura R.F.C., Bjørnland T. Data for identification of 47 key phytoplankton pigments / Phytoplankton pigments in oceanography: guidelines to modern methods. – UNESCO Publishing: Paris, France, 1997. – P. 493 – 553.
12. Kobayashi M. K., Toshihide N. M., Nagai S. Effects of light intensity, light quality and illumination cycle on astaxanthin formation in a green alga, *Haematococcus pluvialis* // J. Ferment. Bioeng. – 1992. – 74. – P. 61 – 63.

13. Lichtenthaler H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic membranes // *Methods Enzym.* – 1987. – **148**. – P. 350 – 382.
14. Tripathi U., Sarada R., Ramachandra Rao S., Ravishankar G. A. Production of astaxanthin in *Haematococcus pluvialis* cultured in various media // *Biores. Technol.* – 1999. – **68**, No 2. – P. 197 – 199.
- Поступила 09 ноября 2011 г.
После доработки 05 июня 2012 г.

Вплив складу середовища на вміст вторинних каротиноїдів у мікроводорості *Scotiellopsis rubescens* (Chlorophyceae). I. M. Чубчикова. Виявлено особливості накопичення кетокаротиноїдів в клітинах зеленої мікроводорості *Scotiellopsis rubescens* Vinatz в залежності від складу середовища на стадії вторинного каротиногенезу при вирощуванні методом двостадійної накопичувальної культури. Наявність в середовищі невеликих кількостей азоту та фосфору ($4 - 5 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$) на 1 – 2 порядки знижує втрати чисельності клітин в результаті стрес-впливу, що ініціює вторинний каротиногенез, в 3 – 4 рази прискорює накопичення сумарних каротиноїдів, в 2 і більш рази підвищує їх вміст у клітинах та культурах і збільшує відносний вміст астаксантина та його найближчих попередників (адоніксантина і кантаксантина) в загальному пулі каротиноїдів.

Ключові слова: *Scotiellopsis rubescens*., вторинний каротиногенез, астаксантин, адоніксантин, кантаксантин

Effect of medium composition on the content of secondary carotenoids in microalgae *Scotiellopsis rubescens* (Chlorophyceae). I. N. Chubchikova. The features of ketocarotenoid accumulation in cells of green microalgae *Scotiellopsis rubescens* Vinatz depending on the medium composition during secondary carotenogenesis stage at cultivation, using a two-stage batch culture, have been revealed. The presence of small amounts of nitrogen and phosphorus in the medium ($4 - 5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$) reduced the loss of cell number after stress-impact, initiating the secondary carotenogenesis by 1 – 2 orders of magnitude, accelerated the accumulation of total carotenoids by 3 – 4 fold, enhanced its content in cells and culture by 2 fold and more, and also increased the percentage of astaxanthin and its predecessors (adonixanthin and canthaxanthin) in total carotenoids pool.

Key words: *Scotiellopsis rubescens*, secondary carotenogenesis, astaxanthin, adonixanthin, canthaxanthin