

Růstové regulátory v řasách

Algal growth regulators

Darina D ř í m a l o v á

Katedra botaniky PřF, Univerzita Palackého, Šlechtitelů 11, Olomouc 783071

Abstract

The form and function of plants would not be possible without efficient regulation and coordination of metabolism, growth and morphogenesis. The occurrence of plant growth regulators in the algae has been the subject of several studies. Hormones have been detected in extracts of both unicellular and multicellular forms of algae. At first with the assistance of bioassays and more recently the use of high-performance liquid chromatography-mass spectrometry brought great progress in our understanding of phytohormone in algae. The synthesis and metabolism of plant growth regulators and the physiological responses of algae to these compounds has also been investigated although many questions still remain unanswered.

Úvod

Biologicky aktivní látky jsou strukturálně a funkčně aktivní látky přítomné v živých organismech. V širším slova smyslu bychom za tyto látky mohli považovat všechny sloučeniny od vody po aminokyseliny. Důraz je však kladen na slovo aktivní, což znamená, že jde o látky vykonávající, respektive podněcující činnost a pro danou činnost specifické.

Biologicky aktivní látky můžeme rozdělit do čtyřech základních skupin:

- A) Látky spojené s bioenergetikou rostlin.
- B) Fotosyntetické pigmenty tvořící bílkovinné komplexy, které se účastní vlastní přeměny energie elektromagnetického záření na energii chemických vazeb.
- C) Enzymy.
- D) Růstové regulátory.

Růstové regulátory koordinují metabolismus, růst a vývoj předáváním informací mezi buňkami a orgány. Mezi přirozené růstové regulátory patří

rostlinné hormony (fytohormony) a další látky s regulační aktivitou (PROCHÁZKA et al. 1998). U rostlin rozlišujeme pět skupin endogenních rostlinných hormonů. Ty jsou přítomny ve velmi malých množstvích neboť jejich účinná koncentrace se nachází v rozmezí 10^{-12} – 10^{-8} mol/g čerstvé hmoty. Závislost účinku fytohormonů není tak zřejmá a může se pohybovat od stimulace k inhibici růstové reakce. Během růstu a vývoje rostlin dochází k interakci různých skupin fytohormonů. Každý z nich ovlivňuje několik, často odlišných procesů a naopak, týž proces bývá ovlivněn větším počtem různých látek. Přítomnost hormonů je dána biosyntézou, rozkladem nebo inaktivací a transportem. Jejich působení je podmíněno vazbou na receptorovou bílkovinu, kde je ke spuštění biochemických reakcí třeba vytvoření komplexu hormon-receptor.

Hormon se může vázat na receptor umístěný na membráně a signál je do buňky přenášen systémy druhých posílů nebo hormon proniká do buňky, váže se na rozpustný receptor v cytoplazmě a takto vzniklý komplex proniká do jádra, kde vyvolá změnu v expresi některých genů (PROCHÁZKA et al. 1998).

Auxiny

Prvním objeveným a nejlépe prozkoumaným fytohormonem je kyselina indolyl - 3 - octová (IAA). Biosyntéza IAA vychází z aminokyseliny tryptofanu a jsou známy 4 biosyntetické cesty. Aktivní formou je volný auxin a zdrojem jsou u vyšších rostlin rostoucí nadzemní orgány, zejména pupeny. Mezi jejich základní fyziologické funkce patří indukce prodlužovacího růstu a stimulace dělení, fototropismus a gravitotropismus, apikální dominance, zakládání postranních a adventních kořenů. Také se účastní opadu plodů a listů.

Cytokininy

Chemicky se jedná o deriváty adeninu se substitucí v N⁶-poloze. Nejvyšší aktivitu mají látky, které jako substituent v poloze N-6 mají izoprenoidní řetězec s dvojnou vazbou (KAMÍNEK 1992). Vazba ribózy v poloze N-9 dává vznik ribozidům, které většinou mají poněkud sníženou aktivitu v porovnání s volnými bázemi. Další snížení aktivity působí vazba fosforečné kyseliny v poloze 5 na ribózu, která dává vznik ribotidům (PROCHÁZKA et al. 1998). Biosyntéza probíhá ve všech rostlinných orgánech, převážně však ve vrcholové části kořenů.

Mezi základní zástupce patří: Z – zeatin, diHZ – dihydrozeatin, BAP – benzylaminopurin, mT – meta-topolin, iP – isopentenyladenin

Základní fyziologickou funkcí cytokininů je stimulace buněčného dělení. Mají vliv na reakce ve fázi S buněčného cyklu a na replikaci DNA během mitózy. Spolu s auxiny jsou základem regeneračních procesů. Snižují také apikální dominanci, zpomalují stárnutí (degradaci chlorofylu) a udržují vysokou metabolickou aktivitu pletiv.

Gibereliny

Fytohormony odvozené od gibbanu. Aktivita hormonu je dána ent-giberelanovým skeletem a liší se podle struktury. Tvoří se pravděpodobně ve všech rostlinných orgánech a jejich nejvyšší hladiny se nachází v místech aktivního růstu a nově se tvořících orgánů.

Hlavní fyziologické účinky giberelinů jsou stimulace prodlužovacího růstu nadzemních částí rostlin. Dále indukují kvetení a regulují období juvenililty. Ovlivňují také ontogenezi při klíčení semen indukcí produkce enzymů mobilizujících zásobní látky.

Kyselina abscisová (ABA)

Chemicky se jedná o seskviterpen s 15 uhlíkovými atomy a cyklickou částí v molekule. Fyziologicky aktivní je výhradně (+)-*S*-izomer. Nejvíce se jí tvoří v dormantních orgánech a rychle rostoucích pletivech. Pro své funkce je nazývána také jako hormon stresu. Kyselina abscisová brání ztrátám vody snižováním transpirace a zvyšováním odolnosti cytoplazmy. Stimuluje degradační procesy a urychluje stárnutí. Reguluje také dormanci semen a pupenů.

Etylen

Biosyntéza vychází z aminokyseliny L-methioninu. Mezi jeho fyziologické účinky patří účast na procesech stárnutí, inhibice prodlužovacího růstu a stimulace radiálního růstu. Signalizuje fyziologický stres a vyvolává ochranné reakce.

Mezi další látky s růstově regulační aktivitou patří brassinosteroidy, polyaminy, kyselina jasmonová, oligosacharidy a fenolické látky.

Historie výzkumu a využití fytohormonů v řasách

Zprávy o využití mořských řas jako hnojiva se datují do doby prvního století našeho letopočtu. Lidé z pobřežních regionů Evropských zemí aplikovali mořské řasy do půdy po staletí (BOOTH 1965). S vývojem chemických hnojiv v 19. století tato forma obohacování půdy ztratila na popularitě. V nedávné době se však projevil nepříznivý vliv umělých hnojiv na životní prostředí a hnojiva z přírodních zdrojů se začala opět vracet na výsluní. Proto během posledních třiceti let velice rychle roste výzkum možného využití řas v zemědělství (MOONEY & VAN STADEN 1985).

Zpočátku byla pozornost z důvodu jejich hojného výskytu celkem logicky zaměřena na mořské řasy a to na zástupce třídy Phaeophyceae. Škála

druhů mořských řas byla studována převážně pro možnost využití jako biohnojiva a pro zlepšení půdních vlastností.

Ascophyllum nodosum (L.) LE JOL. a *Ecklonia maxima* (OSBECK) PAPERF. jsou asi nejběžnější zkoumané druhy. Mezi další patří: *Laminaria digitata* (HUDS.) LAMOUR., *Laminaria hyperborea* FOSLIE, *Laminaria saccharina* (L.) LAMOUR., *Fucus serratus* L., *Fucus vesiculosus* L. (BLUNDEN et al. 1968, BLUNDEN 1977). Výběr těchto druhů byl pravděpodobně řízen spíše jejich velikostí a možností komerčního využití než určením jejich chemického složení (MOONEY & VAN STADEN 1986). Tyto mořské řasy však neobsahují vysoké koncentrace primárních živin jako dusíku, fosforu a draslíku (BOOTH 1966). Přesto však byly v 70. letech 20. století zaznamenány výborné výsledky s aplikací i malého množství řasového materiálu. BOOTH (1966) vysvětloval tyto úspěchy možnou přítomností cytokininů v těchto extraktech. BRAIN et al. (1973) poté prokázali vysoké obsahy cytokininů v komerčně využívaných extraktech z mořských řas a proto začaly být studovány růstové regulátory v řasách.

Zpočátku byl výzkum zaměřen na zástupce řas s makroskopickou stélkou, tzv. “**macroalgae**”:

PHAEOPHYTA

Ascophyllum nodosum (L.) LE JOL. (SAMDERSON & JAMESON 1986, KINGMAN & MOORE 1982)

Bifurcaria brassicaeformis (KÜTZ.) BARTON (STIRK et al. 2003)

Dictyota sp. (STIRK et al. 2003)

Durvillea potatorum (LABILL.) ARESCH. tzv Tasmánský kelp (TAY et al. 1985, 1987)

Ecklonia maxima (OSBECK) PAPERF. (HOFMAN et al 1986, FEATONBY-SMITH & VAN STADEN 1984)

Ecklonia radiata (TURN.) J. AG. (JENINGS 1968, 1969)

Fucus vesiculosus L. (KETZER et al. 1975, 1980)

Fucus serratus L. (STIRK & VAN STADEN 1997)

Himanthalia elongata (L.) S GRAY (LE TUTOUR et al. 1998)

Laminaria digitata (HUDS.) LAMOUR. (HUSSAIN & BONEY 1969)

Laminaria hyperborea FOSLIE

Laminaria japonica ARESCH. (DUAN et al. 1995)

Laminaria pallida GREV. (STIRK et al. 2003)

Laminaria saccharina (L.) LAMOUR.

Macrocystis angustifolia BORY (STIRK et al. 2003)

Macrocystis pyrifera (L.) C. AG. (de Nys et al. 1990, 1991)

Pelagophycus porra (LÉMAN) SETCH. (HART 1982)

Sargassum heterophyllum (TURNER) C. AG. (MOONEY & VAN STADEN 1984)

Sargassum muticum (YENDO) FENS Holt (ZHANG et al. 1991)

Splachnidium rugosum (L.) GREV. (STIRK et al. 2003)

Undaria pinnatifida (HARV.) SPRINGER (ABE et al. 1972, FRIES & ABERG 1978)
RHODOPHYTA

Aeodes orbitosa (SUHR) F.SCHMITZ (STIRK et al. 2003)

Amphiroa bowerbankii HARV. (STIRK et al. 2003)

Arthrocardia sp. (STIRK et al. 2003)

Corallina sp. (STIRK et al. 2003)

Gigartina polycarpa (KÜTZ.) SETCH. (STIRK et al. 2003)

Gigartina scutellata (HERING) SIMONS. (STIRK et al. 2003)

Hymenena venosa (L.) C.KRAUSS (STIRK et al. 2003)

Hypnea musciformis (WULF.) (JENINGS 1969)

Hypnea spicifera (SUHR) HARV. (STIRK et al. 2003)

Iridaea capensis J.AG. (STIRK et al. 2003)

Jania sp. (STIRK et al. 2003)

Nothogenia erinacea (Turner) PARK. (STIRK et al. 2003)

Plocamium corallorhiza (TURNER) HARV. (STIRK et al. 2003)

Porphyra capensis KÜTZ. (STIRK et al. 2003)

Porphyra perforata J. AG. (ZHANG et al. 1991)

Prionitis lanceolata HARV. (BERNART & GERWICK 1990)

Sarcothalia stiriata (TURNER) LEIS. (STIRK et al. 2003)

Suhria vittata (L.) J. AG. (STIRK et al. 2003)

CHLOROPHYTA

Acetabularia mediterranea LAMOUR. (VAN DEN DRIESCHE 1988)

Caulerpa filiformis (SUHR) HER. (STIRK et al. 2003)

Caulerpa paspaloides (BORY) GREV. (ABE et al. 1972, JACOBS et al. 1985)

Caulerpa taxifolia (VAHL) C.AG.(NINOMIYA et al. 1998)

Cladophora capensis (C.AG.) DETONI (STIRK et al. 2003)

Cladophora fascicularis (MERT.) KÜTZ. (KUNIOSHI et al. 1985)

Enteromorpha compressa (L.) NEES (BUTTON & NOYES 1964)

Enteromorpha linza (L.) J.AG. (AUGIER & HARADA 1973)

Enteromorpha prolifera (MÜLLER) J. AG. (JENINGS 1968)

Chara globularis THUILL. (ZHANG et al. 1989)

Halimeda cuneata HER. (STIRK et al. 2003)

Ulva sp. (STIRK et al. 2003)

Nedlouho poté také u zástupců s mikroskopickou stélkou, neboli „**microalgae**“:

CHROMOPHYTA

Cystosiera discors C.AG. (AUGIER 1972)

Gymnodinium splendens LEBOUR. (BENTLEY-MOWAT 1967, BENTLEY-MOWAT & REID 1968)

Phaeodactylum tricornutum BOHLIN (BENTLEY-MOWAT 1967, BENTLEY-MOWAT & REID 1968)

RHODOPHYTA

Cyanidium caldarium

Gymnogongrus norvegicus (GUNN) J.AG. (AUGIER 1972)

CHLOROPHYTA

Coenochloris sp. (STIRK et al. 2002)

Eudorina elegans EHRENB. (VAN STADEN & BREEN 1973)

Chlamydomonas sp. (STIRK et al. 2002)

Chlorella sp. (ÖRDÖG et al. 2004, STIRK et al. 2002, LUKAVSKÝ et al. 1986)

Chlorella minutissima FOTT et NOVÁK (ÖRDÖG et al. 2004)

Chlorosarcina sp. (STIRK et al. 2002)

Pandorina morum BORY (VAN STADEN & BREEN 1973)

Protococcus viridis C.AG. (ÖRDÖG et al. 2004)

Scenedesmus sp. (ÖRDÖG et al. 2004, LUKAVSKÝ et al. 1986)

Scenedesmus quadricauda (TURPIN) BRÉB. (STIRK et al. 2002)

Tetracystis sp. (STIRK et al. 2002)

Volvox carteri J.R.STEIN (VAN STADEN & BREEN 1973)

CYANOPHYTA

Arthronema africanum (SCHW.) KOMÁREK et LUKAVSKÝ (STIRK et al. 1999)

MOONEY & VAN STADEN (1986) uvádí dva hlavní přístupy pro zjišťování přítomnosti a možných rolí endogenních hormonů v řasách:

A/ extrakce, chromatografie a biotesty

B/ studium fyziologických reakcí řas na aplikace růstových regulátorů

Izolační procedury používané ve výše uvedených studiích často zahrnují extrakci alkoholem, následovanou separací do vodní a amonné fáze. Posledními kroky jsou chromatografické analýzy materiálu. Substance podobné cytokininům byly detekovány fluorescencí, UV a barvením za použití Woodova činidla (WOOD 1955), které je specifické pro puriny. Běžně bylo také využíváno jejich separace podle chromatografické mobility a následného testování

biologické aktivity v biotestech. Tyto metodiky však nedokáží bezpečně identifikovat, o který růstový regulátor se jedná.

WEILER et al. (1981) publikoval imunochemickou metodu ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay), která je schopná detekovat obsah fytohormonu v rozmezí 0,05-50 pmol/g čerstvé hmoty. Metoda ELISA využívá principu imunisorbce, což znamená imobilizaci jednoho z partnerů imunokomplexu na pevnou fázi – na povrch jamek mikrotitrační destičky. Vázané a volné reagenty jsou pak odděleny jednoduchým promytím. Pokud je množství protilátek konstantní, je množství vázaného značeného fytohormonu tím větší, čím menší je množství neznačeného fytohormonu ve stanovovaném vzorku a naopak. Pomocí standardů o známé koncentraci lze vyjádřit vztah mezi množstvím neznačeného antigenu v komplexu fytohormon-protilátka. Substrát je přidán do reakčních jamek po imunoreakci a inkubován 10-15 min. Substrát reaguje s tracerem, který je vázán na protilátku navázanou na stěně jamek za tvorby žlutě zabarveného produktu. Absorbance tohoto zabarvení je nepřímo závislá na množství fytohormonu ve vzorku a změřeno ve vertikálním spektrofotometru. Vyjádřením tohoto vztahu získáme kalibrační křivku typickou pro imunoanalýzy.

Nejnovější a nejpresnější metodou stanovení růstových regulátorů je HPLC (high-performance liquid chromatography) nebo-li vysokoúčinná kapalinová chromatografie kombinovaná s hmotnostní spektrometrií (NOVÁK et al. 2003).

Pozornost v rámci růstových regulátorů je věnována zejména cytokininům. Morfogenetické události v životním cyklu zejména makroskopických řas včetně klíčení, větvení, zrání a stárnutí mají některé rysy společné s vyššími rostlinami. Přestože stupeň organizace stélek se může velice lišit, určité procesy bývají doprovázeny stejnou sadou sloučenin.

Cytokininy jsou ve vyšších rostlinách všeobecně spjaty s fenoménem dělení buněk a jejich prodlužováním, inhibicí vrcholových pupenů, s rozlišováním a vývojem specifických organel a s mobilizací živin v rámci rostliny (SKOOG & AMSTRONG 1970, LETHAM 1978, VAN STADEN & DAVEY 1979). Všechny tyto procesy mají také klíčový vliv na vývoj a růst řas. Objevují se zde však navíc aspekty růstové kontroly, které jsou specifické pouze pro řasy (MOONEY & VAN STADEN 1986). Ty jsou odvozeny z jednobuněčné, samostatně žijící formy mnoha druhů a z role vody jakožto obklopujícího media, které slouží ke komunikaci mezi jednotlivými buňkami. Koncentrace vylučovaných látek do prostředí se může měnit díky vnitřním fyziologickým faktorům a mění se i se změnami vodní turbulence, která má vliv na jejich rozptýlení (MOONEY & VAN STADEN 1986). BERGLUND (1969) prokázal, že voda ze zóny *Fucus-Ascophyllum* je vhodná jako živné medium pro laboratorní kultivace řas a že v ní jsou přítomny jak živiny tak růstové regulátory.

Také auxiny mají velký význam při regulaci růstu a vývoje rostlin, zejména při rozvoji kořenového systému rostliny. Z těchto důvodů jsou extrakty z řas obsahující vysoké koncentrace auxinů rovněž středem pozornosti. KINGMAN a MOORE (1982) detekovali kyselinu indolyl-3-octovou (IAA) v komerčním extraktu z řas „Maxicrop“ za použití GLC analýzy. Jejich nález byl potvrzen SANDERSONEM et al. (1987) pomocí metody GC-MS (plynovou chromatografií a hmotnostní spektrometrií). Podrobněji se izolací a identifikací indolových derivátů v hnědé řase *Ecklonia maxima* zabývá také práce CROUCHE et al. (1992).

MOONEY & VAN STADEN (1986) uvádí, že účinnost extraktů z mořských řas na rostlinné tkáni se výrazně liší dle použitého množství. Jestliže chceme dosáhnout reprodukovatelných výsledků je nutné znát úroveň fytohormonální aktivity extraktu. Variabilita je způsobena různými příčinami. První z nich je období sklizně, kdy fytohormonální aktivita koreluje s obdobím vegetačního růstu (MOONEY 1983, MOONEY & VAN STADEN 1984). Druhou je stupeň vývoje, např. u makrořas věk. Je prokázán vliv hladiny růstových inhibitorů v řasové stélce, které mohou zastírat fytohormonální aktivitu (JENNINGS 1969). Dalším důvodem může být i doba sklizně markořas během lunárního cyklu. HOFMAN et al. (1986) zjistil, že hladina endogenních cytokininů u řasy *Ecklonia maxima* vykazuje výraznou měsíční periodicitu. Poslední příčinou variability je fakt, že různé cytokininy mají rozdílnou úroveň aktivity. Celková úroveň aktivity se proto liší v závislosti na přítomných cytokininech (MOONEY 1983, MOONEY & VAN STADEN, 1984, FEATONBY-SMITH & VAN STADEN 1984).

Využití řasových extraktů a výrazné pozitivní výsledky při aplikacích komerčních produktů z řas jsou známy již delší dobu. Použití extraktů zvyšovalo výnosy brambor a travy (BLUNDEN 1972, 1977, BLUNDEN & WILDGOOSE 1977), zlepšení růstu citrusů, rajčat, travního drnu (SENN et al. 1961), cukrové řepy (BLUNDEN et al. 1979) a fazolí (FEATONBY-SMITH & VAN STADEN 1984). Byla také zaznamenána stoupající respirační aktivita a zvýšená klíčivost semen (BYTTON & NOYSEM 1964, AITKEM & SENN 1965). Výrazně vzrostla i resistance rostlin k mrazu, houbovým infekcím a hmyzím škůdcům (STEPHENSON 1966, DRIGGERS 1969, BOOTH 1965, FEATONBY-SMITH & VAN STADEN 1983). O možnostech využití a pozitivním vlivu používáním komerčních řasových extraktů v zemědělství byla napsána v posledních letech řada publikací CROUCH et al. 1992, CROUCH & VAN STADEN 1993, ATZMON & VAN STADEN 1994 a STIRK & VAN STADEN (1997). Zajímavá je ovšem i možná medicínská hodnota řas. Protizánětlivou, antimikrobiální a protinádorovou aktivitou mořských řas se zabývá práce STRIK et al. (2003).

Směr dalšího výzkumu

Přesto, že v posledních letech získává výzkum růstových regulátorů v řasách a sinicích na popularitě, zůstává mnoho otázek nezodpovězených. Jsou známy základní principy a obsahy fytohormonů v makrořasách. Pozornost zejména zemí bez přístupu k mořím je zaměřena také na možnost pěstování a využití mikrořas v kontinentálních podmínkách. Prozkoumanost sladkovodních řas se však omezuje zejména na druhy snadno kultivovatelné. Není známo, jak může dlouhodobé pěstování v laboratorních podmínkách ovlivnit obsahy růstových regulátorů, jak u funguje jednobuněčných zástupců uvolňování fytohormonů během buněčného cyklu a zda lze jejich produkci uměle řídit. Jsou zde také otázky, které se týkají vylučování růstových regulátorů do media v závislosti na složení buněčné stěny. Důležité je ale i studium produkčních schopností přírodních populací.

Literatura

- ABE, H., UCHIYAMA, M. & SATO, R. (1972): Isolation and identification of native auxins in marine algae.-Agric. Biol. Chem 36: 2259-2260.
- AITKEM, I.B. & SEEN, T.L. (1965): Seaweed products as a fertilizer and soil conditioner for horti cultural crops.-Bot. Mar. 8: 144-148.
- ATZMON, N. & VAN STADEN, J. (1994): The effect of seaweed concentrate on the growth of *Pinus pinea* seedlings.-New Forests 8: 279-288.
- AUGIER, H. (1972): Contribution à l'étude biochimique et physiologique des substances de croissance chez les algues.-MS (Thèse Doct.d' Etat), Marseille, 154 pp.
- AUGIER, H. & HARADA, H. (1973): Contribution à l'étude des cytokinines endogènes des algues.-Théthys 5: 81-93.
- BENTLEY-MOWAT, J.A. (1967): Do plant hormones affect the development and ecology of unicellular algae?.- Wissensch.Z., Univ.Rostock, math.natur.Wissensch.Reihe 16: 445-449.
- BENTLEY-MOWAT, J.A. & REID, S.M. (1967): Effect of gibberellins, kinetin and other factors on the growth of unicellular marine algal in cultures.- Bot. Mar.12: 185-199.
- BERGLUND, H. (1969): Stimulation of growth of two marine green algae by organic substance excreted by *Enteromorpha linza* in unialgal and axenic cultures.-Physiol. Plant 22: 1069-1073.
- BERNART, M. & GERWICK, W.H. (1990): 3(hydroxyacetal)indole, a plant growth regulator from the Oregon red alga *Prionitis lanceolata*.- Phytochemistry 29: 3697-3698.
- BLUNDEN, G., CHALLEN, S. B. & WOODS, D.L.(1968): Seaweed extracts as fertilizers.- J. Sci. Food Agric. 19: 289-293.
- BLUNDEN, G. & WILDGOOSE P.B. (1977): The effects of aqueous seaweed extract and kinetin on potato yields.- J. Sci. Food Agric. 28:121-125.
- BOOTH, E. (1965): The manorial value of seaweed .- Bot. Mar. 8: 138-143.
- BUTTON, E.F. & NOYES, C.F. (1964): Effect of a seaweed extract upon emergence and survival of seedling of creeping red fescue.- Agron. J. 56:444-445.

- BRAIN, K.R., CHALOPIN, M.C., TURNEK, T.D., BLUNDEN, G. & WILDGOOSE, P.B. (1973): Cytokinin activity of commercial aqueous seaweed extract.- *Plant Sci. Lett.* 1: 241-245.
- CROUCH, I.J., SMITH, M.T., VAN STADEN, J., LEWIS, M.J. & HOAG, G.V. (1992): Identification of auxins in commercial seaweed concentrate.- *J. Plant Physiol.* 139: 590-594.
- CROUCH, I.J. & VAN STADEN, J. (1993): Evidence for the presence of plant growth regulators in commercial seaweed products.- *Plant Growth Regulation* 13: 21-29.
- VAN DEN DRIESCHE, TH., KEVERS, C., COLLET, M. & GASPAR, TH. (1988): *Acetabularia mediterranea* and ethylene production in relation with development circadian rhythms in emission and response to external application.- *J. Plant physiol* 133: 635-639.
- DUAN, D., LUI, X., PAN, F., LUI, H., CHEN, N. & FEI, X. (1995): Extraction and identification of cytokinin from *Laminaria japonica* Aresch.- *Bot. Mar.* 38: 409-412.
- DE NYS, R., JAMESON, P.E., CHIN, N., BROWN, M.T. & SANDERSON, K.J. (1990): The cytokinins as endogenous growth regulators in *Macrocystis pyrifera* (L.) AG. (Phaeophyceae).- *Bot. Mar.* 33:465-475.
- DE NYS, R., JAMESON, P.E. & BROWN, M.T. (1991): The influence of cytokinins on the growth of *Macrocystis pyrifera* (L.) AG.- *Bot. Mar.* 34: 465-467.
- DRIGGERS, B.F. (1969): European red mite population reduction on apples.- *Hort. News* 50(4): 32-41.
- FEATONBY-SMITH, B.C. & VAN STADEN, J. (1984): Identification and seasonal variation of endogenous cytokinins in *Ecklonia maxima* (OSBEK) PAPERF.- *Bot. Mar.* 27: 527-531.
- FRIES, L. & ÅBERG, S. (1978): Morphogenetic effects of phenylacetic and p-oH-phenylacetic acid on the green alga *Enteromorpha compressa* (L.) GREV. in axenic culture.- *Z Pflanzenphysiol.* 88: 383-388.
- HART, L.C. (1982): Auxins as plant growth regulators in the marine alga *Pelagophycus porra* (Leman.) Setch. (Phaeophyta, Laminales).- MS (PhD Thesis. University of Southern California), Los Angeles, 255 pp.
- HOFMAN, P.A., FEATONBY-SMITH, B.C. & VAN STADEN, J. (1986): The development of ELISA and IRA for cytokinin estimation and their application to a study of lunar periodicity in *Ecklonia maxima* (OSBEK) PAPERF.- *J. Plant Physiology* 122: 455-466.
- HUSSAIN, A. & BONEY, A.D. (1969): Isolation of kinin-like substances from *Laminaria digitata* (HUDS.) LAMOUR.- *Nature* 223: 504-505.
- JACOBS, W.P., FALKENSTEIN, K. & HAMILTON, R.H. (1985): Nature and amount of auxin in algae: IAA from extracts of *Caulerpa paspaloides* (Siphonales).- *Pl. Physiol.* 78:844-848.
- JENNINGS, R.C. (1968): Gibberellin's as endogenous growth regulators in green and brown algae.- *Planta* 80: 34- 42.
- JENNINGS, R.C. (1969): Cytokinins as endogenous growth regulators in the algae *Ecklonia* (Phaeophyta) and *Hypnea* (Rhodophyta).- *Aust. J. Biol. Sci.* 22: 621-627.
- KAMÍNEK, M. (1992): Progress in cytokinin research.- *Trends Biotechnol* 10: 159.
- KENTZER, T., SYNAK, R., BURKIEWICZ, K. & BANAS, A. (1980): Cytokinin-like activity in sea water and *Fucus vesiculosus* L.- *Biol. Plant.* 22:218-225.
- KINGMAN, A.R. & MOORE, J. (1982): Isolation of growth regulating substances in *Ascopyllum nodosum* (L.) LE JOL.- *Bot. Mar.* 25: 149-153.
- KUNIYOSHI, M., YAMADA, K. & HIGA, T. (1985): A biologically active diphenylether from the green alga *Cladophora fascicularis*.- *Experientia* 41: 523-524.
- ÖRDOĞ, V. & PULZ, O. (1996): Diurnal changes of cytokinin-like activity in strain of *Arthronema Afričanum* (Cyanobacteria) determined by bioassays.- *Algological Studies* 82: 57-67.

- ÖRDOG, V., STIRK, V.A., VAN STADEN, J., NOVÁK, O. & STRNAD, M. (2004): Endogenous cytokinin in the three genera of microalgae from the Chlorophyta.- J. Phycol. 40: 88-95.
- LETHAM, D.S., GOODWIN, P.B. & HIGGINS, T.J.V. (1978): Phytohormones and related compounds.- A comprehensive treatise 1: 205-263.
- LE TOUTOUR, B., BENSLIMANE, F., GOULEAU, M.P., GOUYGOU, J.P., SAADAN, B. & QUEMENEUR, F. (1998): Antioxidant and pro-oxidant activities of the brown algae: *Laminaria digitata*, *Himanthalia elongata*, *Fucus vesiculosus*, *Fucus serratus* and *Ascophyllum nodosum*.- J. Appl. Phycol. 10: 121-129.
- LUKAVSKÝ, J., KOMÁREK, J., LUKAVSKÁ, A., LUDVÍK, J. & POKORNÝ, J. (1986): Metabolic activity and cell structure of immobilized algae cells (*Chlorella*, *Scenedesmus*).- Algological Studies 43: 261-279.
- MOLNÁR, Z. & ÖRDOG, V. (1996): Comparison of some bioassays for cytokinin determination in microalgae.- Proceeding, Conference on progress in plant science from Plant Breeding to Growth Regulation, 163-169.
- MOONEY, P.A. & VAN STADEN, J. (1984): Seasonal changes in the levels of endogenous cytokinins in *Sargassum heterophyllum* (Phaeophyta).- Bot. Mar. 27:437-442.
- MOONEY, P.A. & VAN STADEN, J. (1986): Algae and cytokinins.- J. Plant Physiology 123: 1-21.
- NINOMIYA, M., ONISHI, J.-I. & KUSUMI, T. (1998): 12-lipoxygenase inhibitory activity of Japanese seaweeds and isolation of a caulerpenyne derivative from the green alga *Caulerpa taxifolia* as an inhibitor.- Fish. Sc. 64: 346-347.
- NOVÁK, O., TARKOWSKI, P., TARKOWSKÁ, D., DOLEŽAL, K., LENOBEL, R. & STRNAD, M. (2003): Quantitative analysis of cytokinins in plants by liquid chromatography–single-quadrupole mass spectrometry.- Anal Chim Acta 480, 207-218.
- MACHÁČKOVÁ, I. (1998): Růst a vývoj: růstové regulátory.-In: PROCHÁZKA, S., MACHÁČKOVÁ, I., KREKULE, J. & ŠEBÁNEK, J. (eds): Fyziologie rostlin.- Academia, Praha, 226-285.
- SANDERSON, K.J., JAMESON, P.E. & ZABKIEWICZ, J.A. (1987): Auxin in a seaweed extract: Identification and quantification of indole-3-acetic acid by gas chromatography-mass spectrometry. J. Plant Physiology 129: 363-367.
- SEEN, T.L., MARTIN, J.A., CRAWFORD, J.H. & DEKTING, C.W. (1961): The effect of Norwegian seaweed (*Ascophyllum nodosum*) on the development and composition of certain horticultural and special crops.- South Carolina, Arg. Expt. Station, Res. Ser. 23: 57-64.
- SKOOG, F. & AMSTRONG, D.J. (1970): Cytokinins.- Ann. Rev. Plant Physiology 21:359-384.
- STEPHENSON, W.M. (1966): The effect of hydrolysed seaweed on certain plant pests and diseases.- Proc. Int. Seaweed Symp. 5: 405-415.
- STIRK, W.A., NOVÁK, O., STRNAD, M. & VAN STADEN, J. (2003): Cytokinins in macroalgae.- Plant Growth Regul. 41(1): 13-24.
- STIRK, W.A. & VAN STADEN, J. (1997): Isolation and identification of cytokinins in a new commercial seaweed product made from *Fucus serratus* L.- J. Appl. Phycol. 9:327-330.
- STIRK, W.A., ÖRDOG, V. & VAN STADEN, J. (1999): Identification of the cytokinin isopentenyladenine in a strain of *Arthronema africanum* (Cyanobacteria).- J. Phycol. 35:89-92.
- STIRK, W.A., SCHWALB, A.N., LIGHT, M.E., MEDKOVÁ, J., LENOBEL, R., STRNAD, M. & VAN STADEN, J. (2003): Potential medicinal value of some South African seaweeds.- South African Journal of Botany 69(4): 462-468.

- TAY, S.A.B., PALNI, L.M.S. & MACLEOD, J.K. (1987): Identification of cytokinin glucosides in a seaweed extract.- J.Plant Growth Reg. 10: 109-115.
- VAN STADEN, J. & BREEN, C.M. (1973): Cytokinins in freshwater algal cultures.-Plant Sci. Lett.1:325-330.
- VAN STADEN, J. & DAVEY, J.E. (1979): The synthesis, transport and metabolism of endogenous cytokinins.- Plant, Cell and Enviroment 2: 93-106.
- WEILER, E.W., JOURDAN, P.S. & CONRAD, W. (1981): Levels of indole-3-acetic acid in intact and decapitated coleoptiles as determined by a specific and highly sensitive solid-phase enzyme immunoassay. - Planta 153 :561–571.
- WOOD, T. (1995): A reagent for the detection of chloride and of certain purines and pyrimidines on paper chromatograms.- Nature 176,175-176.
- ZHANG, W.,YAMANE, H., TAKAHASHI, N., CHAPMAN, D.J. & PHINNEY, B.R. (1989): Identification of a cytokinin in the green alga *Chara globularis*.-Phytochemistry 28: 337-338.
- ZHANG, W.,CHAPMAN, D.J.,PHINNEY, B.R. & SPRAY, C.R. (1991): Identification of cytokinins in *Sargassum muticum* and *Porphyra perforata* (Rhodophyta).- J. Phycol. 27: 87-91.