

ХАРАКТЕРИСТИКА НОВОГО ШТАММА ЗЕЛЕННОЙ МИКРОВОДОРОСЛИ ИРАН D9A3 ИЗ КОЛЛЕКЦИИ ЖИВЫХ КУЛЬТУР КАРОТИНОГЕННЫХ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ ИНБЮМ (IBSSCA)

Данцюк Н. В. , Чубчикова И. Н. , Челебиева Э. С. , Дробецкая И. В. , Мансурова И. М.

ФИЦ ИнБЮМ им.А.О.Ковалевского РАН
nterent@mail.ru

Исследования вторичного каротиногенеза как стратегии выживания микроводорослей Chlorophyta в условиях постоянного абиотического стресса актуальны более трёх десятилетий. Каротиногенные микроводоросли широко распространены в пресноводных и наземных биоценозах, и поиск среди них наиболее продуктивных штаммов выявляет новые потенциально перспективные объекты для получения кетокаротиноидов – мощных антиоксидантов и иммуномодуляторов, представляющих ценность для пищевой и косметической промышленности, фармакологии, сельского хозяйства. На базе коллекции живых культур каротиногенных микроводорослей ИнБЮМ (IBSSca) проводятся работы по исследованию экстремобионтных каротиногенных микроводорослей (различных таксономических групп), полученных путем межколлекционного обмена или собственных полевых сборов. Изучаются механизмы их адаптации к острому абиотическому стрессу, используются молекулярно-генетические методы и электронно-микроскопические технологии, позволяющие значительно улучшить понимание явления вторичного каротиногенеза. В коллекции обеспечивается сохранность перспективных видов на агаризованных питательных средах для дальнейшего изучения их биотехнологического потенциала как продуцентов высокоценных кетокаротиноидов астаксантинового ряда, а также природных источников липидов для биотоплива третьего поколения.

В целях пополнения коллекции в 2021 году был получен новый штамм зеленой микроводоросли Иран D9A3 из Федерального научного центра биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН (г. Владивосток, Россия). Штамм был изолирован со ствола пальмы в 2009 году (г. Нур, Иран) и его таксономический статус в рамках отдела Chlorophyta на момент получения был неизвестен. Альгологически чистая культура Иран D9A3 поддерживается в контролируемых условиях в активно вегетирующем состоянии методом субкультуры на агаризованной питательной среде Болда. При длительном хранении на агаре визуально отмечено покраснение стареющих культур, что является характерной особенностью каротиногенных видов. Для определения таксономического положения штамма применялся интегративный подход, включающий методы молекулярно-генетического анализа, микроскопии и анализ морфо-физиологических характеристик. Филогенетический анализ с использованием стандартных маркерных генов 18S рРНК и *rbcl*, характерных для Chlorophyceae, дал возможность отнести штамм Иран D9A3 к семейству Scenedesmaceae. Результаты микроскопии позволили предположить принадлежность штамма к роду *Coelastrella* из-за наличия на поверхности клеток меридиональных ребер, сходящихся на полюсах – характерного морфологического признака данного рода. Отмечено, что молодые вегетативные клетки эллипсоидной формы, с апикальными утолщениями, их длина и ширина варьируют в пределах 7- 14 мкм и 5-9 мкм, соответственно. Бесполое размножение осуществляется автоспорами (по 2-4 в спорангии). Половое размножение и жгутиковая стадия не зарегистрированы. По мере старения красные клетки округляются, увеличиваются в размерах, утолщается клеточная оболочка. Методом тонкослойной хроматографии в каротиноидном спектре краснеющей культуры были идентифицированы кетокаротиноиды, характерные для представителей порядка Sphaeropleales: кантаксантин (доминирующая фракция, 24% от суммарных каротиноидов), адониксантин и астаксантин и их эфиры. Содержание каротиноидов в сухой биомассе составляло 0,13%. При подборе оптимальных условий культивирования и интенсификации вторичного каротиногенеза штамм Иран D9A3 может рассматриваться как потенциально перспективный объект биотехнологических исследований, в качестве продуцента высокоценных кетокаротиноидов группы астаксантина.

CHARACTERISTICS OF A NEW GREEN MICROALGAE STRAIN IRAN D9A3 FROM THE IBSSCA COLLECTION OF LIVE CAROTENOID-PRODUCING MICROALGAE CULTURES

Dantsyuk N. V. , Chubchikova I. N. , Chelebieva E. S. , Drobetskaya I. V. , Mansurova I. M.

*A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS
nterent@mail.ru*

Studies of secondary carotenogenesis as a survival strategy for Chlorophyta microalgae under abiotic stress conditions have been relevant for more than three decades. Carotenogenic microalgae are widely distributed in freshwater and terrestrial ecosystems. The search for the most productive strains among them reveals new promising candidates for the production of ketocarotenoids. These valuable antioxidants and immunomodulators are widely used in the food, cosmetic, pharmaceutical, and agricultural industries.

On the basis of the IBSSca (Collection of live cultures of carotenogenic microalgae from the Kovalevskii Institute of Biology of the Southern Seas), which is continuously updated with new species through inter-collection exchanges and our own field sampling, research is ongoing to identify new extremophilic carotenogenic microalgae from various taxonomic groups. Their responses to acute abiotic stress are being studied to better understand the physiology and adaptive significance of secondary carotenogenesis.

The collection ensures the preservation of promising species on suitable agar media for further study of their biotechnological potential as producers of ketocarotenoids (astaxanthin and its synthesis intermediates) as well as lipid-based third-generation biofuels.

In 2021, the collection was replenished with a new strain of green microalgae, Iran D9A3, obtained from the Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences (Vladivostok, Russia). This strain was isolated from a palm tree trunk in 2009 in Nur, Iran, and its taxonomic status within the Chlorophyta was unknown at the time of receipt.

Algologically pure Iran D9A3 culture is maintained in an active vegetative state on agarized Bold media under controlled conditions using the subculture method. The reddening of microalgal colonies on agar slants was visually observed when they were stored for a long time period. This is a characteristic feature of carotenogenic species. To determine the taxonomic position of the strain, an integrative approach was employed, including the analysis of molecular genetic, morpho-physiological, and electron microscopic characteristics.

Molecular phylogenetic analysis using standard 18S rRNA and rbcL marker genes for Chlorophyceae allows assignment of the Iran D9A3 strain to the Scenedesmaceae family. The results of light, scanning electron, and confocal microscopy suggest that the strain belongs to the genus *Coelastrella*, due to the presence of meridional ribs on the cell surface that converge at the poles, which is a characteristic morphological feature of this genus.

It is noted that young vegetative cells have an ellipsoidal shape, with apical thickening. Their length and width are 7-14 microns and 5-9 microns respectively. Asexual reproduction is carried out by autospores (2-4 in sporangia). Sexual reproduction and the flagellar stage were not noted.

As cultures age, red cells become rounder and larger, and the cell walls become thicker. Using thin-layer chromatography, ketocarotenoids characteristic of the Sphaeropleales order were identified in the carotenoid composition: canthaxanthin (dominant fraction, 24% of total carotenoids), adonixanthin, astaxanthin, and their esters. Carotenoid content in dry biomass was 0.13%. When selecting optimal conditions for the cultivation and intensification of secondary carotenogenesis, the Iran D9A3 strain can be considered a potentially promising object for biotechnological research as a producer of valuable ketocarotenoids, astaxanthin biosynthesis intermediates.