

Видовая идентификация и содержание каротиноидов в микроводорослях рода *Dunaliella* из гиперсоленых озер Крыма

И.В. Дегтяр*, А.О. Лантушенко

ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет», Севастополь, Россия

* ivdegtyar@sevsu.ru

Цель: Целью данной работы является видовая идентификация зеленых микроводорослей рода *Dunaliella*, обитающих в гиперсоленых озерах Крыма, а также определение содержания в них каротиноидов. Работа направлена на изучение биоразнообразия микроводорослей в экстремальных условиях среды и оценку их потенциала как источников биологически активных веществ, в частности β-каротина, представляющего интерес для промышленности.

Материалы и методы: Образцы были собраны из пяти гиперсоленых озер Крыма: озеро Сасык-Сиваш, озеро Сакское, озеро Ойбургское, озеро Мойнакское и озеро Геническое. Были выделены чистые культуры микроводоросли рода *Dunaliella* методом посева на агаризованную среду Ben-Amotz с соленостью 1 М. Полученные культуры выращивались на среде Ben-Amotz с соленостью 2М при температуре 20 °С с фотопериодом 12 часов освещение/12 часов без освещения. Для идентификации видов проводился филогенетический анализ. Выделение ДНК осуществлялось при помощи набора реагентов ДНК-Экстран-2 (Синтол, Россия). ПЦР-анализ последовательности внутреннего транскрибируемого спейсера ITS проводился с помощью стандартных праймеров ITS1 и ITS2. Секвенирование проводилось по методу Сенгера на генетическом анализаторе НАНОФОР 05 (Синтол, Россия). Для индукции стресса в культуру, находящейся в стационарной фазе роста, добавлялась перекись водорода (2,5 мМ) и увеличивалась освещенность, при этом для каждого образца стрессовые условия были идентичны. Экстракция каротиноидов проводилась с помощью ацетона. Содержание хлорофиллов и каротиноидов определялось спектрофотометрическим методом.

Результаты: На основе анализа последовательности ITS было установлено, что штаммы из озер Ойбургского, Сасык-Сивашского, Мойнакского и Генического принадлежат к виду *Dunaliella salina*. Интересно отметить, что штамм из Сакского озера, вероятно, относится к *D. parva*. Внутри вида *D. salina* наблюдается внутривидовая вариабельность, исследователи выделяют не менее 4 генетических линий. Интересно отметить, что крымские образцы образуют клады с разными генетическими линиями.

Метод экстракции каротиноидов из биомассы *Dunaliella* с использованием ацетона показал высокую эффективность, при этом содержание каротиноидов для образцов из разных озер сильно варьировалось. Наибольшая концентрация β-каротина была зафиксирована в экстрактах из Сакского и Ойбургского озер, а наименьшая – из Генического озера.

Выводы: Установлено, что на территории крымского полуострова обитают два каротинногенных вида микроводорослей рода *Dunaliella*: *D. salina* и *D. parva*. Для штаммов вида *Dunaliella salina* из озер Ойбургского, Сасык-Сивашского, Мойнакского и Генического наблюдается определенная генетическая изменчивость. Содержание каротиноидов для образцов из разных озер сильно варьировалось, при этом наибольшая концентрация β-каротина была зафиксирована в экстрактах из Сакского и Ойбургского озер, а наименьшая – из Генического озера.

Финансирование: Работа выполнена в рамках государственного задания Севастопольского государственного университета «Фотобиофизический мониторинг окружающей среды на основе спектрально-флуоресцентных свойств структурно-организованных молекулярных (включая наночастицы) и супрамолекулярных биологически важных систем» (FEFM-2023-0005).