

Сравнение жирнокислотных профилей разных штаммов диатомовой водоросли *Cyclotella meneghiniana* Kützing из соленого озера Тахилт-Нуур (Монголия)

Comparison of fatty acid profiles of different strains of diatom *Cyclotella meneghiniana* Kützing from the salt lake Tahilt-Nuur (Mongolia)

Кривова З. В.^{1,2}, Мальцев Е. И.¹, Куликовский М. С.¹

Krivova Z. V.^{1,2}, Maltsev Y. I.¹, Kulikovskiy M. S.¹

¹Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, г. Москва, Россия. E-mail: kosiareya@mail.ru

¹K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS, Moscow, Russia

²Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, г. Москва, Россия

²Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Реферат. Диатомовые водоросли являются широко распространённой группой микроорганизмов, многие из которых способны накапливать значительные количества длинноцепочечных и полиненасыщенных жирных кислот. В ходе исследования флоры диатомовых водорослей соленых озёр Монголии выделено 5 штаммов *Cyclotella meneghiniana*. Таксономический статус подтверждён морфологическими и молекулярно-генетическими исследованиями, также установлены особенности жирнокислотного состава. Показано, что штаммы *Cyclotella meneghiniana* являются продуцентами длинноцепочечных полиненасыщенных омега-3 жирных кислот и представляют интерес для дальнейшего биотехнологического применения.

Ключевые слова. Биотехнология, жирные кислоты, диатомовые водоросли, молекулярная биология, *Cyclotella meneghiniana*.

Summary. Diatoms are a widespread group of microorganisms, many of which are able to accumulate significant amounts of long-chain and polyunsaturated fatty acids. 5 strains of *Cyclotella meneghiniana* were isolated during the study of diatom flora in the salt lakes of Mongolia. The taxonomic status was confirmed by morphological and molecular genetic studies, and the features of the fatty acid composition were also established. We found that *Cyclotella meneghiniana* strains are producers of long-chain polyunsaturated omega-3 fatty acids and are of interest for further biotechnological applications.

Key words. Biotechnology, *Cyclotella meneghiniana*, diatoms, fatty acids, molecular biology.

Диатомовые водоросли являются эврибионтными организмами, которые обитают повсеместно: в почвах, пресных и соленых водоемах. Одной из особенностей, благодаря которой они приспосабливаются к изменчивым условиям окружающей среды, является способность накапливать высокие концентрации липидов. Использование биомассы, обогащенной липидами, нашло применение в разных прикладных сферах, в том числе в биотехнологии (Bozarth et al., 2009; Baldisserotto et al., 2019). Подбор условий культивирования во многом зависит от однозначной идентификация вида. На данный момент для определения таксономии диатомовых водорослей используются морфологические и молекулярно-филогенетические методы, а также биохимические маркеры. *Cyclotella meneghiniana* – центрическая диатомовая водоросль (Beer et al., 2011), для которой отмечена способность обитать в изменчивых, и часто экстремальных, условиях среды (Håkansson, 2002).

Материалом послужили штаммы диатомовых водорослей, выделенные из проб фитопланктона, отобранных из монгольского озера Тахилт-нуур в 2015 г. Соленое озеро находится на высоте 1833 м над ур. м., средняя глубина составляет 1,8 м, а площадь водного зеркала – 5,1 км². Водоем относится к сульфатно-натриевому типу, содержит в себе такие химические элементы как бор, бром, литий, руби-

дий, силиций и стронций. Также в воде содержится уран в концентрации 0,02 мг/л и мышьяк – 7 мкг/л (Исупов и др., 2011).

Изоляция отдельных клеток диатомовых водорослей проводилась с помощью микропипетки под световым инвертированным микроскопом Zeiss AxioScore A1 (Германия) с очищением каждой клетки в нескольких каплях дистиллированной воды. Альгологически чистые монокультуры водорослей содержались в жидкой среде ESAW (Полякова и др., 2018) в колбах (250 мл) при 25 °С и постоянном освещении 100 мкмоль фотонов м⁻² с⁻¹. Штаммы были проанализированы после достижения стационарной фазы роста. Таксономическое положение штаммов определялось с помощью анализа морфологии с использованием микроскопа Zeiss AxioScore A1 (Германия), оснащенного иммерсионным объективом (DIC), а также молекулярно-филогенетических исследований. Выделение ДНК из диатомовых водорослей производилось набором InstaGene Matrix фирмы BIORAD (США) в соответствии с протоколом производителей. Последовательности, кодирующие баркодинговый регион V4 гена 18S рРНК (390–410 н.), были амплифицированы с использованием праймеров D512 и D978 (Zimmermann et al., 2015). Последовательности, кодирующие хлоропластный ген *rbcL*, были амплифицированы с помощью праймеров *rbcL404* (Ruck, Theriot, 2011) и *rbcL1255* (Alverson et al., 2007). Для получения жирнокислотных профилей использовался метод экстрагирования метиловых эфиров жирных кислот (МЭЖК) с помощью гексана. Состав МЭЖК определяли с использованием ГХ-МС (газовая хроматография/масс-спектрометрия) на приборе Agilent 7890A GC (Agilent Technologies, Inc., США) с 60-м капиллярной колонкой DB-23 с внутренним диаметром 0,25 мм.

Было исследовано пять штаммов диатомовых водорослей Mns 57, Mns 62, Mns 64, Mns 66, Mns 67. Согласно морфологическому анализу и молекулярно-генетическим данным по двум генам все проанализированные штаммы принадлежат к виду *Cyclotella meneghiniana*. Данные жирнокислотных профилей были практически идентичны. Среди мажорных жирных кислот были как насыщенные (миристиновая С 14 : 0 и пальмитиновая С 16 : 0), так и мононенасыщенные (пальмиолеиновая С16:1). Данные кислоты активно используются в производстве косметической продукции (Bialek et al., 2016). Также стоит отметить, что штаммы накапливают длинноцепочечные насыщенные жирные кислоты (ЖК): арахидоновую (С 20 : 0), бегеновую (С 22 : 0) и трикоциловую (С 23 : 0) кислоты. Важно, что штаммы *Cyclotella meneghiniana* накапливают длинноцепочечную полиненасыщенную омега-3 эйкозопентаеновую ЖК. Способность накапливать омега-3 ЖК позволяет рассматривать биомассу исследованных штаммов, как ценное сырье при создании кормов для аквакультуры. Полученные результаты исследования подтверждают, что выделенные штаммы являются перспективным для биотехнологии объектами и подтверждают необходимость их дальнейшего изучения.

Благодарности. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 20-74-10076).

ЛИТЕРАТУРА

Исупов В. П., Владимиров А. Г., Шварцев С. Л., Ляхов Н. З., Шацкая С. С., Чупахина Л. Э., Куйбида Л. В., Колпакова М. Н., Ариунбилэг Содов, Кривоногов С. К. Химический состав и гидроминеральные ресурсы соленых озер Северо-Западной Монголии // Химия в интересах устойчивого развития, 2011. – Т. 19, № 2. – С. 141–150.

Полякова С. Л., Давидович О. И., Подунай Ю. А., Давидович Н. А. Модификация среды ESAW, используемой для культивирования морских диатомовых водорослей // Морской биологический журнал, 2018. – Т. 3, № 2. – С. 73–80.

Alverson A. J., Jansen R. K., Theriot E. C. Bridging the Rubicon: phylogenetic analysis reveals repeated colonizations of marine and fresh waters by thalassiosiroid diatoms // Molecular phylogenetics and evolution, 2007. – Vol. 45, № 1. – P. 193–210.

Bialek A., Bialek M., Jelinska M., Tokarz A. Fatty acid profile of new promising unconventional plant oils for cosmetic use // International journal of cosmetic science, 2016. – Vol. 38, №. 4. – P. 382–388.

Baldisserotto C., Sabia A., Ferroni L., Pancaldi S. Biological aspects and biotechnological potential of marine diatoms in relation to different light regimens // World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2019. – Vol. 35, № 2. – P. 35.

Beer A., Juhas M., Büchel C. Influence of different light intensities and different iron nutrition on the photosynthetic apparatus in the diatom *Cyclotella meneghiniana* (Bacillariophyceae) 1 // Journal of Phycology, 2011. – Vol. 47, № 6. – P. 1266–1273.

Bozarth A., Maier U. G., Zauner S. Diatoms in biotechnology: modern tools and applications // Applied microbiology and biotechnology, 2009. – Vol. 82, № 2. – P. 195–201.

Håkansson H. A compilation and evaluation of species in the general *Stephanodiscus*, *Cyclostephanos* and *Cyclotella* with a new genus in the family *Stephanodiscaceae* // *Diatom research*, 2002. – Vol. 17, № 1. – P. 1–139.

Ruck E. C., Theriot E. C. Origin and evolution of the canal raphe system in diatoms // *Protist*, 2011. – Vol. 162, № 5. – P. 723–737.

Zimmermann J., Glöckner G., Jahn R., Enke N., Gemeinholzer B. Metabarcoding vs. morphological identification to assess diatom diversity in environmental studies // *Molecular ecology resources*, 2015. – Vol. 15, № 3. – P. 526–542.