

**Новый род коккоидных зеленых микроводорослей клады *Chlorella*,
обладающий высоким биотехнологическим потенциалом****Научный руководитель – Темралеева Анна*****Кривина Елена Сергеевна****Кандидат наук*Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пущино,
Россия*E-mail: Pepelisa@yandex.ru*

Род *Chlorella* был описан М.В. Бейеринком в 1890 г. и первоначально включал в себя одноклеточные кокковидные зеленые водоросли с клетками шаровидной, овальной или широкоовальной формы, без щетинок, размером менее 10 мкм, размножающиеся автоспорами. По мере накопления знаний о *Chlorella*-подобных организмах была разработана идея клады *Chlorella*, включающей роды с различными морфотипами: *Dictyosphaerium*-подобным (колонии до 64 клеток, соединенные слизистыми стеблями), *Actinastrum*-подобным (клетки веретеновидные, соединены в колонии), *Micractinium*-подобным (клетки продуцируют щетинки и образуют колонии) [5]. В настоящее время, несмотря на более чем 130-летнюю историю изучения, надежная и точная идентификация *Chlorella*-подобных организмов до сих пор затруднена из-за простоты их морфологии и высокой фенотипической пластичности. В связи с этим в современных исследованиях по изучению и оценке видового разнообразия так называемых «маленьких зеленых шариков» наблюдается тенденция к активному использованию молекулярно-генетических методов анализа [2]. Изучение видового разнообразия *Chlorella*-клады представляет не только сугубо научный, но и практический интерес. Благодаря высокой продуктивности биомассы, метаболической пластичности, способности производить большое количество белков, липидов, каротиноидов, полисахаридов и витаминов, представители клады *Chlorella* являются одними из наиболее культивируемых эукариотических микроводорослей, используемых для производства биотоплива, фармацевтических препаратов, пищевых добавок, кормов для животных, сельскохозяйственных удобрений и препаратов для очистки сточных вод [1]. В данной же работе приводятся результаты изучения нового рода *Chlorella*-подобных водорослей, обладающего биотехнологическим потенциалом.

В качестве объекта исследования выступил штамм IPPAS C-1210, изолированный из оз. Иссык, Казахстан (43°15'11" N, 77°29'05" E) в 2013 году. Морфология исследуемого штамма была типична для *Chlorella*-подобных водорослей. Вегетативные клетки были одиночными, шаровидными, широкоовальными или овальными (3,5–6,5 мкм). Хлоропласт пристенный, чашевидный с одним пиреноидом, окруженный зернами крахмала. Размножение 2–8 автоспорами. От сестринского вида *C. thermophila* [6] он отличался большими размерами.

Филогенетический анализ фрагмента 18S-ITS1-5.8S-ITS2 показал, что изученный штамм IPPAS C-1210 и *C. thermophila* ITBB HTA 1-65 формировали кластер, занимающий уникальное филогенетическое положение в *Chlorella*-кладе. Генетические дистанции между штаммами IPPAS C-1210 и *C. thermophila* ITBB HTA 1-65 соответствовали, по меньшей мере, межвидовому уровню (3,9%), между этими штаммами и аутентичным штаммом *C. vulgaris* SAG 211-11b – межродовому уровню (5,2–5,4%). Кроме того, у штамма IPPAS C-1210 в отличие от штамма *C. thermophila* ITBB HTA 1-65 был обнаружен интрон длиной 440 п.н. в составе нуклеотидной последовательности гена 18S рРНК. Также между штаммом IPPAS C-1210 и сестринским *C. thermophila* ITBB HTA 1-65 была обнаружена 1 СВС

в консервативном регионе шпильки I ITS2, что также подтверждает самостоятельный видовой статус исследуемого штамма. Уровень генетических различий между штаммами IPPAS C-1210 и *C. thermophila* ITBB НТА 1-65 согласно концепции Hoshina et al. [3] однозначно соответствовал межвидовому (17,6%).

Штаммы IPPAS C-1210 отличался от сестринского *C. thermophila* ITBB НТА 1-65 и средой обитания. Исследуемый штамм был свободноживущим обитателем пресноводного водоема, как и большинство представителей клады *Chlorella*. Штамм *C. thermophila* ITBB НТА 1-65 был изолирован с крыши [6]. Таким образом, можно предположить, что это эпибионт.

Штамм IPPAS C-1210 умеренно термотолерантен, поскольку способен расти при температуре 36 ± 1 °C и сохранять жизнеспособность после инкубации при температуре 41 ± 1 °C. Оптимальная температура для роста составляла 30 ± 1 °C. Также исследуемый штамм IPPAS C-1210 является галотолерантным и способен использовать бикарбонат в качестве источника углерода [4]. В настоящее время среди представителей *Chlorella*-клады, для которых изучена реакция на воздействие высоких температур, *C. sorokiniana* обладает самой высокой термостойкостью (растет при температурах до 42 °C). Штамм *C. thermophila* ITBB НТА 1-65 считается вторым по термостабильности [6]. Как уже говорилось выше, исследуемый штамм IPPAS C-1210 также продемонстрировал термотолерантные свойства, которые, однако, были несколько ниже, чем у *C. sorokiniana* и *C. thermophila*. Принимая во внимание результаты филогенетического анализа, вполне вероятно, что штаммы IPPAS C-1210 и *C. thermophila* ITBB НТА 1-65 – представители рода, устойчивого к высоким температурам.

Помимо термостойкости, штамм IPPAS C-1210 является биотехнологически перспективным источником ценных жирных кислот (FAS). В экспоненциальной фазе в профиле жирных кислот преобладали пальмитиновая, 7,10-гексадекадиеновая, 7,10,13-гексадекатриеновая, линолевая и α -линоленовая кислоты с индексом ненасыщенности 1,776. При переходе к стационарной фазе роста количество пальмитиновой, олеиновой и, в меньшей степени, линолевой кислот значительно увеличилось, а содержание 7,10-гексадекадиеновой, 7,10,13-гексадекатриеновой и α -линоленовой кислот снижалось [7].

Таким образом, можно с уверенностью утверждать, что изученный штамм IPPAS C-1210 и родственный штамм ITBB НТА 1-6 являются представителями независимого рода *Neochlorella* gen. nov. в составе клады *Chlorella*. Предложенное название подчеркивает, что это именно новый род *Chlorella*-подобных водорослей. Штамма IPPAS C-1210 описан как аутентичный штамм типового вида *N. semenenkoi*, штамм ITBB НТА 1-6 – как аутентичный штамм вида *N. thermophila*.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ), грант № 19-34-60002 (морфологические и филогенетические исследования); Российского научного фонда (РНФ), грант № 20-14-00280 (физиологические тесты). Депонирование и поддержание штамма IPPAS C-1210 в коллекции IPPAS осуществлялось при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 122042700045-3).

Источники и литература

- 1) Adar O., Kaplan-Levy R.N., Banet G. High temperature Chlorellaceae (Chlorophyta) strains from the Syrian-African Rift Valley: The effect of salinity and temperature on growth, morphology and sporulation mode // European Journal of Phycology. 2016. V. 51. No. 4. P. 387–400.
- 2) Heeg J.S., Wolf M. ITS2 and 18S rDNA sequence-structure phylogeny of *Chlorella* and

- allies (Chlorophyta, Trebouxiophyceae, Chlorellaceae) // Plant Gene. 2015. V. 4. P. 20–28.
- 3) Hoshina R., Iwataki M., Imamura N. *Chlorella variabilis* and *Micractinium reisseri* sp. nov. (Chlorellaceae, Trebouxiophyceae): Redescription of the endosymbiotic green algae of *Paramecium bursaria* (Peniculia, Oligohymenophorea) in the 120th year // Phycological Research. 2010. V. 58. No. 3. P. 188–201.
 - 4) Krivina E.S., Bobrovnikova L.A., Temraleeva A.D., Markelova A.G., Gabrielyan D.A., Sinetova M.A. Description of *Neochlorella semenenkoi* gen. et sp. nov. (Chlorophyta, Trebouxiophyceae), a novel *Chlorella*-like alga with high biotechnological potential // Diversity. 2023. V. 15. No. 4: 10.3390/d15040513.
 - 5) Luo W., Pröschold T., Bock C., Krienitz L. Generic concept in *Chlorella*-related coccoid green algae (Chlorophyta, Trebouxiophyceae) // Plant Biology. 2010. V. 12. No. 3. P. 545–553.
 - 6) Ma S., Han B., Huss V.A.R., Hu X., Sun X., Zhang J. *Chlorella thermophila* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta), a novel thermo-tolerant *Chlorella* species isolated from an occupied rooftop incubator // Hydrobiologia. 2015. V. 760. P. 81–89.
 - 7) Sinetova M.A., Sidorov R.A., Starikov A.Y., Voronkov A.S., Medvedeva A.S., Krivova Z.V., Pakholkova M.S., Bachin D.V., Bedbenov V.S., Gabrielyan D.A. et al. Assessment of the biotechnological potential of cyanobacterial and microalgal strains from IPPAS culture collection // Applied Biochemistry and Microbiology. 2020. V. 56. P. 794–808.