

ЭУКАРИОТИЧЕСКИЕ МИКРООРГАНИЗМЫ ОЗЁРНЫХ СООБЩЕСТВ И ЛИШАЙНИКОВ ОАЗИСА ХОЛМЫ ЛАРСЕМАНА (ВОСТОЧНАЯ АНТАРКТИДА): НОВЫЕ ОБНАРУЖЕНИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ

И.А. Кутузова¹, Т.А. Федоренко¹, А.Е. Соловченко¹, А.В. Качалкин^{1,2},
А.М. Глушакова^{1,2,3}, О.В. Анисимова¹

¹МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия, iakut.msu@gmail.com;

²Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина, Москва, Россия;

³НИИ вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова, Москва, Россия

Аннотация. В работе приводятся некоторые результаты изучения альгологических сообществ внутренних озёр и дрожжевых сообществ лишайников на территории оазиса Холмы Ларсеманн. Обнаружены новые виды дрожжевых грибов и десмидиевых водорослей, отличающиеся от известных, по литературным данным, морфологически и генотипически. Для выделенных из озёрных сообществ микроводорослей проведён скрининг, показавший активное накопление ими пигментов каротиноидной природы, представляющими ценность для биотехнологии.

Ключевые слова: Антарктика; озёра; микроводоросли; каротиноиды; биотехнология; десмидиевые водоросли; дрожжевые грибы.

EUKARYOTIC MICROORGANISMS OF LAKE COMMUNITIES AND LICHENS OF THE LARSEMANN HILLS OASIS (EAST ANTARCTICA): NEW DISCOVERIES AND BIOTECHNOLOGICAL POTENTIAL

I.A. Kutuzova¹, T.A. Fedorenko¹, A.E. Solovchenko¹, A.V. Kachalkin^{1,2},
A.M. Glushakova^{1,2,3}, O.V. Anissimova¹

¹Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia, iakut.msu@gmail.com;

²Scriabin Institute of biochemistry and physiology of microorganisms, Moscow, Russia;

³Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia

Abstract. The paper presents some results of studying algological communities of inland lakes and yeast communities of lichens on the territory of the Larsemann Hills oasis. New species of yeast fungi and desmid algae have been discovered that differ from the known ones, according to the literature, morphologically and genotypically. Screening was carried out for microalgae isolated from lake communities, which showed their active accumulation of carotenoid pigments, which are valuable for biotechnology.

Keywords: Antarctica; lakes; microalgae; carotenoids; biotechnology; desmid algae; yeast fungi.

Ввиду длительной биогеографической изоляции в сообществах различных экосистем Антарктиды сохранилось реликтовое биоразнообразие, защищённое «островным эффектом» от подавления экзотическими популяциями. Изучение таких сообществ представляет большой интерес для фундаментальной и прикладной науки, позволяя обнаружить новые антарктические виды-эндемики, обладающие специфическими механизмами адаптации к жизни в экстремальных условиях континента, а также потенциалом для использования в биотехнологии.

Способность антарктических микроводорослей к биосинтезу каротиноидов.

Одноклеточные водоросли (микроводоросли, МВ) являются наиболее богатым и экономически эффективным биотехнологическим источником каротиноидов – пигментов полиизопреноидной природы. У растений, включая МВ, каротиноиды участвуют в сборе световой энергии при фотосинтезе, а также защищают фотосинтетический аппарат и клетку в целом от фотоповреждения. В клетках человека и животных каротиноиды проявляют широкий спектр полезных свойств, в т. ч. антиоксидантные, противовоспалительные, противоопухолевые свойства, защищают клетки и ткани от дегенеративных процессов и преждевременного старения [3]. Натуральные каротиноиды, такие как астаксантин, лютеин и бета-каротин, являются высокоценной биоактивной добавкой, востребованной на мировом и российском рын-

ках. Однако широкое внедрение биотехнологического получения каротиноидов из микроводорослей сдерживается довольно низкой продуктивностью и устойчивостью известных штаммов-продуцентов каротиноидов. В этой связи представляет интерес скрининг биотехнологического потенциала МВ из экстремальных местообитаний, таких как Антарктида, в отношении их устойчивости к стрессорам окружающей среды и способности к биосинтезу каротиноидов.

В настоящей работе исследовали 40 изолятов МВ, выделенных из образцов альгобактериальных матов внутренних озёр оазиса Холмы Ларсеманн (Восточная Антарктида), собранных в январе-феврале 2023 г. во время 68-й Российской Антарктической Экспедиции. В ходе исследования получали накопительные культуры, из которых впоследствии выделяли альгологические монокультуры стандартными микробиологическими и альгологическими методами. Полученные в результате культуры, в целом, имели морфологию клеток, типичную для представителей *Chlorophyta*. Для индукции каротиногенеза, клетки выращивали на ярком свете, в условиях азотного голодания (BG-110) [13]. В итоге у большинства исследованных изолятов наблюдали морфологические и биохимические признаки вторичного каротиногенеза: клетки приобретали оранжево-красную окраску (рис. 1, А, Б), а на спектрах их экстрактов появлялись отчетливые полосы поглощения каротиноидов (рис. 2).

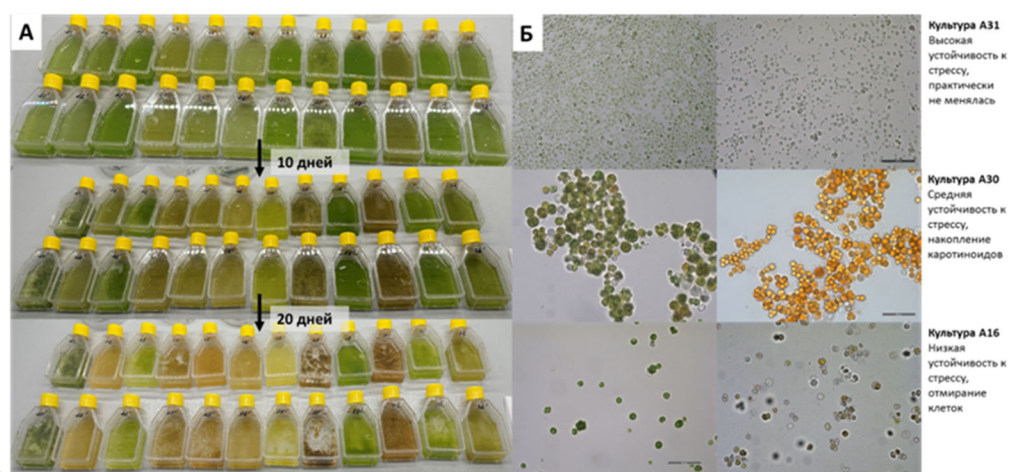


Рис. 1. Внешние морфологические изменения культур под воздействием стресс-факторов (интенсивный свет, азотное голодание): А – общий вид культур изолятов МВ до эксперимента, на 10-е, на 20-е сутки воздействия; Б – микроскопирование препаратов культур до и после воздействия стресс-факторов: А31 – пример устойчивой культуры (практически нет изменений), А30 – культура средней устойчивости (активный синтез каротиноидов), А16 – неустойчивая к данному типу стресса культура (гибель клеток)

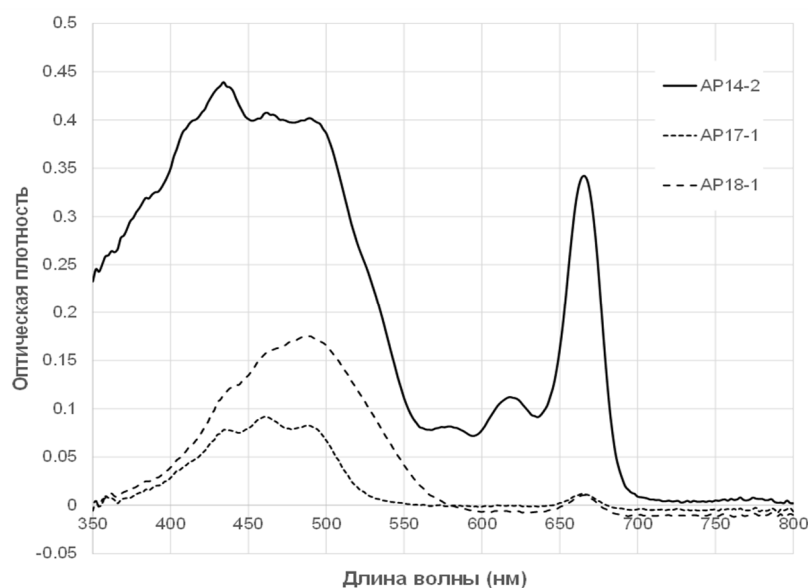


Рис. 2. Репрезентативные оптические спектры поглощения экстрактов клеток изолятов микроводорослей, выделенных из антарктических природных образцов. Присутствие вторичных каротиноидов проявляется в виде полос в сине-зелёной области спектра (максимум около 490 нм)

Накопление каротиноидов является основной реакцией фотосинтезирующих организмов, в частности МВ, на световой стресс. Как видно на рисунках (рис. 1, А, Б), изученные изоляты заметно различались по реакции на данный тип стресса. При этом значительная гибель клеток всё же не наблюдалась, что свидетельствует об устойчивости большинства выделенных изолятов к действию экспериментальных стрессоров (свет высокой интенсивности, азотное голодание) и, следовательно, потенциально пригодны для биотехнологического получения каротиноидов методом двухфазного культивирования.

Таким образом, исследование биоразнообразия МВ Антарктиды и выделение из него потенциальных продуцентов каротиноидов не только вносит вклад в исследование видового разнообразия МВ, но и важно для разработки эффективных отечественных фотобиотехнологий для получения ценных каротиноидных пигментов. Дальнейшие исследования должны быть направлены на получение более полной характеристики биотехнологического потенциала новых изолятов и определение их таксономического статуса.

Новый вид десмидиевых водорослей рода *Staurastrum* из антарктических озёр.

Род *Staurastrum* Meyen ex Ralfs – один из крупнейших таксонов порядка Desmidiiales. Ранее было установлено, что род *Staurastrum* полифилетичен [7]. Многие виды этого рода, особенно мелкоклеточные, вызывают трудности в идентификации и, вероятно, до сих пор не описаны. Исследования антарктических десмидиевых водорослей проводились неоднократно [1, 2, 8, 10, 14]. К настоящему времени известно не более 30 видов десмидиевых, из которых 3 относятся к роду *Staurastrum*. В данной работе мы изучили один из видов, обнаруженный в феврале 2023 г. в антарктическом озере LH-59 (69°23'31.00"S, 76°21'8.36"E) [6], расположенном на полуострове Брокнес оазиса Холмы Ларсеманн (Восточная Антарктида). Это озеро располагается в аккумулятивной депрессии рельефа и имеет общую зону водосбора с двумя соседними озерами, но гидрологически не связано с ними. Оно характеризовалось сравнительно низкой биомассой – свободно-плавающие водорослевые маты обнаруживались редко, а их придонный слой был прерывистый и смещался к западному берегу озера.

Материалы отбирали по стандартной методике альгологических сборов и фиксировали на месте отбора 4 % раствором формальдегида. Наряду с отбором проб измеряли гидрохимические параметры водоёма с использованием мультиметра ULTRAPEN PT1 (Myron L Company, USA). По усреднённым данным измерений за полевой сезон, озеро обладало следующими гидрохимическими характеристиками: pH 4,5–5,0; минерализация (tds NaCl, мг/л) 81,4–92,1; электропроводность (KCl, мкСм/см) 153–190; температура 0,8–6,9°C. Рассматриваемый в данной работе объект был выделен из образца эпифитона одиночного альгобактериального мата черно-оранжевого цвета пластинчатой формы.

Исследование изолятов проводили с использованием микроскопа Leica DM1000 при 400-кратном увеличении и на сканирующем электронном микроскопе СЭМ Jeol JSM-6308LA (Япония). Все использованные в работе образцы хранятся в альгологической коллекции кафедры микологии и альгологии МГУ имени М.В. Ломоносова.

Описанный нами вид *Staurastrum antarcticum* Anissimova & Kutuzova принадлежит к группе гладкоклеточных видов *Staurastrum*, таких как *S. muticum* Brébisson ex Ralfs, *S. coarctatum* Brébisson, *S. ralfsii* (West & G.S. West) Coesel & Meesters. Общий облик *Staurastrum antarcticum* сходен с *S. coarctatum* var. *subcurtum* Nordstedt и *S. coarctatum* var. *solitarium* Flint, *S. thomassonii* Nygaard, но отличается от них значительно меньшими размерами (около 10 мкм). По литературным данным нам не удалось найти ни одного столь маленького гладкостенного вида *Staurastrum*: размеры всех сходных по морфологии таксонов превышают 20 мкм. На клеточной стенке имеется несколько пор, расположенных по углам полуклеток (сверху и снизу), и одна пора в центре вершины. Какой-либо специфической орнаментации клеточной стенки не было обнаружено. В целом, описанный вид отличается от известных видов *Staurastrum* сочетанием двух характеристик: миниатюрными размерами клеток и гладкой клеточной стенкой. Более подробное описание изучения данного вида представлено в статье соавторов [5].

Новый вид дрожжей рода *Papiliotrema* из антарктических лишайников.

Лишайники представляют собой многокомпонентные микробные сообщества, в которых доминирует симбиоз грибов и водорослей, однако талломы лишайников населены весьма разнообразной микробиотой: микромицетами, дрожжами, микроводорослями, бактериями и простейшими. Дрожжи в талломе лишайников представлены в основном базидиомицетами из разных таксономических и экологических групп, при этом роль дрожжевых грибов в талломе лишайников в настоящее время изучена недостаточно, как и их видовое разнообразие [9]. Исследование дрожжевых грибов лишайников представляет особый интерес для экологии и систематики этой группы микроорганизмов, поскольку этот тип субстрата является постоянным источником новых для науки видов

[9]. Анализ дрожжевого сообщества антарктических лишайников позволяет лучше понять специфику формирования таких межорганизменных ассоциаций при воздействии экстремальных факторов окружающей среды.

В ходе проведения исследования дрожжевого населения лишайников Антарктиды из образцов, отобранных на территории полуострова Брокнес (оазис Холмы Ларсеманн) в районе озёр Скандретт и Дискашн, и предположительно относящихся к видам *Mastodia tessellata* и *Lecania brialmontii*, были выделены два штамма базидиомицетовых дрожжей и проведена их видовая идентификация на основании секвенирования ITS региона рДНК. Полученные результаты показали, что они относятся к новому виду рода *Papiliotrema*. Выделенные штаммы были помещены в коллекцию дрожжей кафедры биологии почв МГУ под номерами КБП Y-7364 и КБП Y-7390.

Новый вид рода *Papiliotrema* близкородственен видам *Papiliotrema nemorosus* и *Papiliotrema zeae*, но отличается от них более чем на 4-6 % замен в нуклеотидной последовательности ITS региона рДНК (рис. 3). Такое отличие указывает на принадлежность выделенных штаммов КБП Y-7364 и КБП Y-7390 к новому виду. По данным, размещенным в генбанке NCBI, из водных местообитаний умеренных широт США ранее был известен штамм *Papiliotrema* sp. TV25-10-4 (MW765203) [5], который отличается от антарктических культур заменой всего одного нуклеотида, что указывает на конспецифичность штаммов. Таким образом, можно сделать вывод о достаточно широком распространении этого нового неопisanного вида дрожжей.

Стоит отметить, что ранее было известно обнаружение этого рода дрожжей в ассоциации с лишайниками *Lecanora* sp., *Peltigera dilacerata*, *Usnea* sp. [11,12], и некоторые виды рода *Papiliotrema* были ранее обнаружены в Антарктиде (данные коллекции CBS). Таким образом, обнаружение нового вида в ассоциации с антарктическими лишайниками вносит не только вклад в исследование видового разнообразия дрожжей, но важно для понимания экологии и географического распространения этих микроорганизмов, в том числе и роли дрожжей в ассоциации с лишайниками в экстремальных местообитаниях.

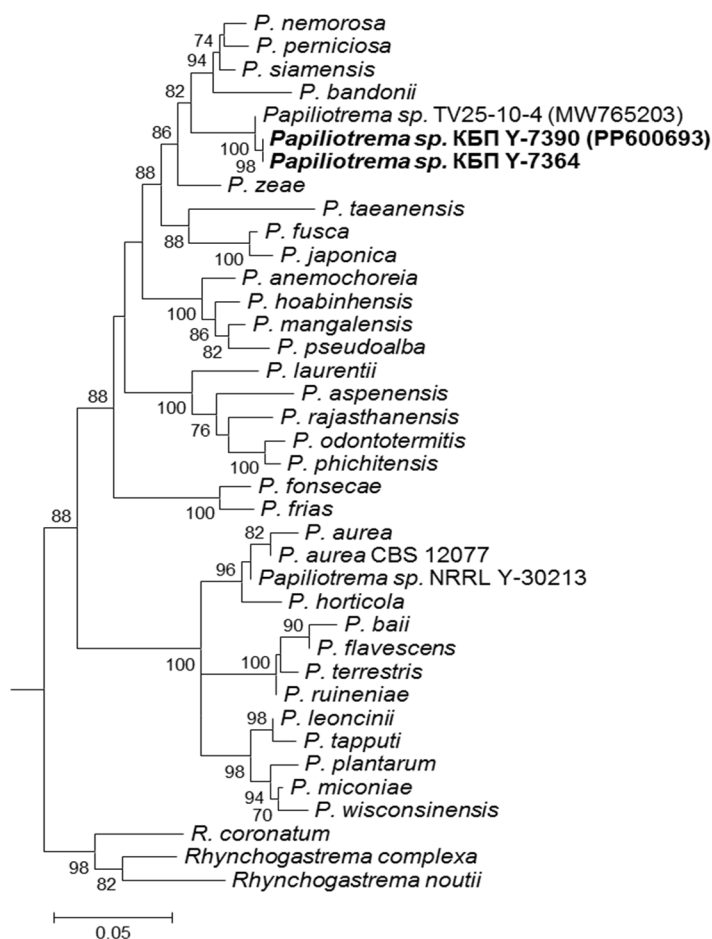


Рис. 3. Филогенетическое положение антарктических штаммов и других представителей рода *Papiliotrema* по данным ITS региона рДНК

Литература

1. Лукницкая, А.Ф. Конъюгаты (Charophyta, Zygnematomphuseae) в окрестностях станций Прогресс и Беллинсгаузен (Антарктика) / А.Ф. Лукницкая // Ботанический журнал. – 2020. – Т. 105, № 10. – С. 950–956. – DOI: 10.31857/S0006813620100051.
2. Смирнова, С.В. Сообщества водорослей водоемов оазиса Ширмахера, Восточная Антарктида / С.В. Смирнова, О.Я. Чаплыгина, А.Ф. Лукницкая // Проблемы Арктики и Антарктики. – 2020. – Т. 66, № 2. – С. 198–216. – DOI: 10.30758/0555-2648-2020-66-2-198-216.
3. Astaxanthin: Sources, extraction, stability, biological activities and its commercial applications – A review / R.R. Ambati // Marine drugs. – 2014. – Vol. 12. – P. 128–152.
4. Anissimova, O.V. Staurostrum antarcticum: a new desmid species from a lake in oasis Larsemann Hills (East Antarctica) / O.V. Anissimova, I.A. Kutuzova // Phytotaxa. – 2024. – Vol. 644, №. 3. – P. 236–240. – DOI: 10.11646/phytotaxa.644.3.7.
5. Fungal Planet description sheets: 1284–1382 / P.W. Crous [et al.] // Persoonia. – 2021. – Vol. 47. – P. 178–374.
6. An Atlas of the lakes of the Larsemann Hills, Princess Elizabeth Land, Antarctica / D. Gillieson [et al.] // Australian National Antarctic Research Expeditions, Antarctic Division, Dept. of the Arts, Sport, the Environment, Tourism, and Territories. – 1990. – V. 74. – 173 p.
7. Gontcharov, A.A. A study of conflict between molecular phylogeny and taxonomy in the Desmidiaceae (Streptophyta, Viridiplantae): Analyses of 291 rbcL Sequences / A.A. Gontcharov, M. Melkonian // Protist. – 2011. – Vol. 162, № 2. – P. 253–267. – DOI: 10.1016/j.protis.2010.08.003.
8. Hirano, M. Freshwater algae from Yukidori Zawa, near Syowa Station, Antarctica / M. Hirano // Memoirs of the National Institute of Polar Research Special Issue. – 1979. – Vol. 11. – P. 1–25.
9. Endothallic yeasts in the terricolous lichens Cladonia / A. Kachalkin [et al.] // Mycological Progress. – 2024. – Vol. 23. – Art. 29. – P. 1–31.
10. Komárek, J. Freshwater Algae from a Lake in Proximity of the Novolazerevskaya Station, Antarctic / J. Komárek, J. Růžička // Preslia. – 1966. – Vol. 38. – P. 237–244.
11. Masumoto, H. The effect of surface sterilization and the type of sterilizer on the genus composition of lichen-inhabiting fungi with notes on some frequently isolated genera / H. Masumoto, Y. Degawa // Mycoscience. – 2019. – Vol. 60. – P. 331–342.
12. Raudabaugh, D.B. Culturable diversity of lichen associated yeasts through enrichment strategies / D.B. Raudabaugh, M.C. Aime // Ecologies. – 2023. – Vol. 4. – P. 152–170.
13. Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria / R. Rippka [et al.] // Journal of General Microbiology. – 1979. – Vol. 111. – P. 1–61.
14. Rare and new for Antarctica species of algae from the continental waterbodies of Schirmacher Oasis / S.V. Smirnova [и др.] // Novosti sistematiki nizshikh rastenii. – 2021. – Vol. 55, № 2. – P. 335–347. – DOI: 10.31111/nsnr/2021.55.2.335.