

МУЛЬТИГЕННЫЙ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КАРОТИНОСОДЕРЖАЩЕЙ МИКРОВОДОРОСЛИ *D. SALINA*

А.О. Лантушенко¹, Я.В. Мегер¹, В.Е. Шаповалова¹, И.В. Дегтяр¹, А.Б. Боровков²

¹ Севастопольский государственный университет, Севастополь

² Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, Севастополь

Dunaliella salina – микроскопическая водоросль, в массовом количестве вызывающая красное «цветение», особенно яркое в период летнего испарения воды из гиперсоленых озер, и широко распространенная в гипергалинных озерах степного Крыма. *Dunaliella salina* известна своими антиоксидантными свойствами, благодаря способности к выработке β-каротина в больших количествах, который широко используется в производстве косметики, пищевой продукции и биологически активных добавок. Существовать в условиях высокой солености этим водорослям позволяет высокая концентрация β-каротина и глицерола, выполняющих протекторные функции. Высокое накопление этих биологически активных веществ обуславливает перспективность использования *D. salina* в биотехнологии [1].

Важной особенностью *Dunaliella* является отсутствие жесткой клеточной стенки и наличие пластичной клеточной мембраны, способной быстро менять форму в ответ на изменение внешних условий. Это обуславливает сильные колебания размеров клеток, что не позволяет морфометрически определить видопринадлежность с достаточной степенью достоверности.

Поэтому в настоящее время для идентификации и дифференциации морфологически пластичных организмов используется молекулярная таксономия. Для изучения рода *Dunaliella* используется несколько молекулярных маркеров [2]: ген 18S рРНК, внутренняя транскрибируемая область (ITS) и большая субъединица гена рибулозо-бисфосфаткарбоксилазы (RbcL) и общепринятым является использование комплексного подхода, заключающегося в совместном рассмотрении морфологических, физиологических и молекулярно-генетических характеристик.

В данной работе проведен мультигенный филогенетический анализ культуры микроводоросли *Dunaliella salina* штамм IBSS-2 из ЦКП "Коллекция гидробионтов Мирового океана" ФИЦ ИнБЮМ с использованием последовательностей генов 18S рРНК, ITS и rbcL.

Исследования проводились в ЦКП «Молекулярная структура вещества» СевГУ. Секвенирование молекулярных фрагментов осуществлялось на секвенаторе НАНОФОР-05 (Синтол, Россия).

Амплификация рибосомального гена 18S рРНК из изолята *Dunaliella* в настоящем исследовании дала ПЦР-продукты размером около 1800 bp. Ранее было установлено [2], что различные известные виды *Dunaliella* имеют ПЦР продукты разной длины, и их размер позволяет отличить, в частности, *D. tertiolecta* и *D. salina*.

Филогенетический анализ проводили в программе MEGA-X и MrBayes. Для реконструкции филогенетического дерева применяли методы максимального правдоподобия и Байеса. Достоверность установленной топологии проверяли при помощи bootstrap-анализа (1 000 итераций).

Самый высокий уровень гетерогенности был получен в результате филогенетического анализа с использованием ITS последовательности. Комплексное рассмотрение морфологических, физиологических и молекулярно-генетических характеристик позволяет отнести исследованный штамм к виду *Dunaliella salina*.

Работа выполнена в рамках внутреннего гранта СевГУ на 2021 г., идентификатор 30/06–31 и темы № 121030300149–0 ФИЦ ИнБЮМ «Исследование механизмов управления продукционными процессами в биотехнологических комплексах с целью разработки научных основ получения биологически активных веществ и технических продуктов морского генезиса»

Литература

1. Боровков А.Б. Зеленая микроводоросль *Dunaliella salina* Teod. (обзор) // Экология моря. – 2005. Т. 67. – С. 5–17.
2. Preetha, K., John, L., Subin, C.S., Vijayan, K.K., 2012. Phenotypic and genetic characterization of *Dunaliella* (Chlorophyta) from Indian salinas and their diversity. *Aquat. Biosyst.* 8, 27. <https://doi.org/10.1186/2046-9063-8-27>.