

УДК 581.182.261.1574.5

ЭКОЛОГО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ ДИАТОМОВОЙ ВОДОРΟΣЛИ *Nitzschia amabilis* H. SUZUKI

© 2023 г. С. Л. Полякова^а, *, С. Н. Железнова^б, Р. Г. Геворгиз^б, Н. А. Давидович^а

^аКарадагская научная станция им. Т.И. Вяземского — природный заповедник Российской академии наук — филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра “Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского Российской академии наук”, Феодосия, Республика Крым, Россия

^бФедеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр “Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского Российской академии наук”, Севастополь, Республика Крым, Россия

*e-mail: sviatlana.poliakova.77@mail.ru

Поступила в редакцию 21.08.2023 г.

После доработки 13.09.2023 г.

Принята к публикации 14.09.2023 г.

Работа посвящена изучению эколого-физиологических свойств, продукционных и биохимических характеристик диатомовой водоросли *Nitzschia amabilis*. Определен оптимум по солености (35–36‰), освещенности (2.95 клк) и фотопериоду (14 ч), при котором достигается наибольшая удельная скорость роста клеток. Установлен коэффициент светового насыщения (I_k), который оказался меньше единицы, что говорит о высокой энергоэффективности фотосинтеза. Результаты экспериментов по солености показали способность водоросли расти в диапазоне 4–68‰, свидетельствуя о ее относительно широкой эвригалинности. Изучен биохимический состав *N. amabilis* при накопительном культивировании. В целом у исследуемого штамма преобладали полиненасыщенные жирные кислоты, доминирующими были эйкозопентаеновая, арахидоновая и докозагексаеновая. Основная доля насыщенных жирных кислот приходилась на пальмитиновую кислоту. Установлены показатели продуктивности *N. amabilis* в отношении липидов, фукоксантина и ПНЖК, которые в 2.5–3 раза выше в проточном режиме культивирования, чем в накопительном.

Ключевые слова: *Nitzschia amabilis*, биохимический состав, диатомовые водоросли, культивирование, освещенность, соленость

DOI: 10.31857/S0015330323600572, EDN: CVGKQV

ВВЕДЕНИЕ

Диатомовые водоросли (*Bacillariophyta*) являются одними из самых многочисленных и разнообразных фотоавтотрофов на планете [1]. Способность адаптироваться к различным экологическим средам обитания и производить биомассу богатую разнообразными соединениями, которую возможно применять в медицине, пищевой и косметической промышленности, в сельском хозяйстве, при производстве биотоплива и т.д., делает их биотехнологически привлекательным ресурсом. Известно, что некоторые виды диатомовых способны накапливать до 50% полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) от общего количества жирных кислот в сухой биомассе, среди них длинноцепочечные ПНЖК омега-3 и омега-6 [2, 3].

Как известно удельная скорость роста биомассы микроводорослей является важным фактором

для потенциального их использования в биотехнологических производствах, активно развивающихся в последние десятилетия. Поэтому первоочередной и важной задачей является поиск и введение в культуру высокопродуктивных видов микроводорослей, определение оптимальных условий и технологий культивирования при минимальных экономических затратах, включая энергетические [4].

Среди множества диатомовых водорослей, которые синтезируют биологически активные вещества, особый интерес представляют бентосные виды, отличительной особенностью которых является способность интенсивно расти при пониженной освещенности и температуре, а также оседать на дно, что позволяет достаточно просто осуществлять сбор урожая и в значительной мере упрощает процесс производства биомассы микроводорослей в промышленных масштабах. Оче-

видна целесообразность поиска новых “видов-продуцентов” с широким диапазоном толерантности к меняющимся абиотическим факторам именно среди бентосных микроводорослей *Bacillariophyta*.

В ходе наблюдений за выделенными и введенными в культуры видами бентосных диатомовых водорослей нами был выявлен быстро нарастающий вид из рода *Nitzschia* Hassall, определенный нами как *Nitzschia amabilis* H. Suzuki. Ознакомление с тематической литературой [5–11] указало на малую изученность эколого-физиологических свойств этой водоросли, знание которых является критически важным для выбора объектов культивирования.

Цель данной работы заключалась в изучении некоторых эколого-физиологических свойств, продукционных и биохимических характеристик диатомовой водоросли *Nitzschia amabilis* перспективной для практического (economic) культивирования ввиду ее высоких темпов деления и накопления ценных метаболитов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Nitzschia amabilis (рис. 1) довольно широко распространенная бентосная пеннатная диатомовая водоросль [11]. Из проб, отобранных в Атлантическом океане у побережья острова Гран Канария (Gran Canaria, архипелаг Канарских островов), в лабораторных условиях микропипеточным способом [12] с использованием инвертированных оптических микроскопов Nib-100 и Bif-100 (“Biobase”, Китай), выделен и введен в культуру штамм 20.0515-SK. Культуру содержали в конических колбах Эрленмейера объемом 100 мл в комнате с постоянным температурным режимом $20 \pm 1^\circ\text{C}$ при естественном освещении. В качестве среды использовали искусственную морскую воду соленостью 36‰, приготовленной по рецепту ESAW с модификациями [13]. Для поддержания культуры в фазе экспоненциального роста осуществляли пересев в свежую среду с недельной периодичностью.

Для определения оптимума солености, при котором достигается наиболее интенсивный темп деления, посевы осуществляли в чашки Петри диаметром 5 см в среду с разной соленостью (0, 4, 10, 18, 30, 36, 48, 68, 96, 110‰). Приняв во внимание оптимум солености, для установления оптимальных условий освещения мы поместили чашки Петри в условия освещенности 4.75, 2.95, 2.00, 1.50, 1.05, 0.66 клк при заданных фотопериодах (10- и 14-часовом, совпадавшем по продолжительности с естественным фотопериодом в это время года (апрель), а также непрерывном в течение сут). Эксперименты по изучению влияния солености и интенсивности света на удельную

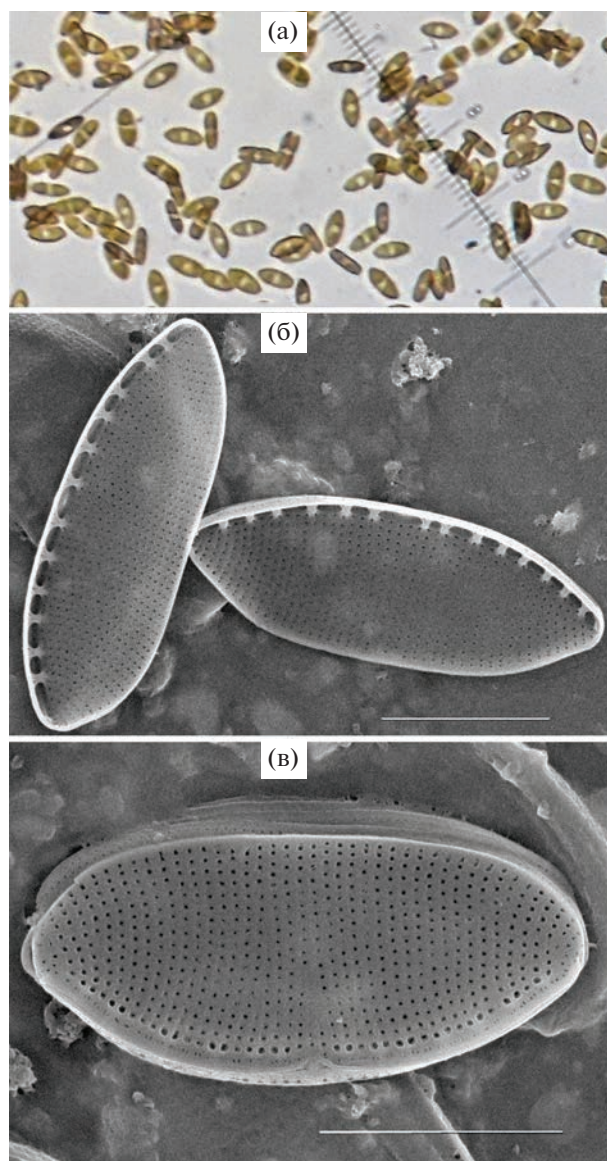


Рис. 1. *Nitzschia amabilis* H. Suzuki, клетки клона 20.0515-SK (а) – общий вид клеток, (б, в) – фрагменты створок, с фибулами, пороидами и штрихами; (а) – световая микроскопия, (б, в) – сканирующая электронная микроскопия. Масштаб – 5 мкм.

скорость роста *N. amabilis* проводили в фазе экспоненциального роста.

Для описания кривых роста в зависимости от интенсивности освещения использовали уравнение, позволяющие описывать параболические зависимости [14]:

$$\mu = \mu_m (1 - \exp(-\lambda I)), \quad (1)$$

где μ_m – максимальная удельная скорость роста, μ – удельная скорость роста при определенной интенсивности света, λ – коэффициент крутизны кривой, вычисляемой из отношения:

$$\lambda = \sum \ln(1 - \mu/\mu_m) / \sum I, \quad (2)$$

где ΣI — сумма интенсивностей света (клк), при которой проводились измерения удельной скорости роста.

Для определения области светового насыщения (I_k), два прямолинейных участка кривой интерполировали до пересечения. Точка пересечения, отнесенная к оси абсцисс, принималась за константу светового насыщения.

Измерения длины клеток производили на микроскопе Biolar PI (“PZO”, Польша) с помощью окулярной линейки, калиброванной по объект-микрометру. Фотографии сделаны при помощи микроскопа Bioptic C300 (“Biopic”, Китай), оснащенного камерой Moticam (“Motic”, Китай). Электронные фотографии панцирей получены на сканирующем электронном микроскопе (СЭМ) Hitachi SU3500 (“Hitachi”, Япония). Для СЭМ проводили пробоподготовку материала, для чего суспензию клеток объемом 5–8 мл помещали в пробирку затем заливали дистиллированной водой, через 3 дня центрифугировали и заменяли половину дистиллята 35% перекисью водорода. Кипятили на песчаной бане два дня по 4 ч в день. После полного обесцвечивания пробы осадок промывали дистиллированной водой не менее 5 раз. Фотографии использованы для биометрических измерений и для определения видовой принадлежности штамма.

Удельную скорость роста (r , сут^{–1}) рассчитывали, исходя из уравнения экспоненциального роста численности клеток в культуре:

$$N_t = N_0 \exp(r(t - t_0)), \quad (3)$$

где N_t и N_0 — число клеток в момент времени t и в начальный момент времени t_0 соответственно, откуда

$$r = (\ln N_t - \ln N_0) / (t - t_0). \quad (4)$$

После преобразования уравнения (3) к линейному виду значение коэффициента r линейной регрессии рассчитывали методом наименьших квадратов по четырем-пяти точкам, соответствующим дням подсчета численности клеток, которую определяли как среднее значение для 15 полей зрения микроскопа в первой и во второй серии экспериментов. Для перехода от удельной скорости роста к темпу деления (k , удвоений сут^{–1}), полученные значения r делили на $\ln(2)$ в соответствии с уравнением [12]:

$$k = r / 0.6931.$$

Время удвоения численности (T_2), выраженное в тех же единицах, что и для удельной скорости роста можно рассчитать, используя уравнение:

$$T_2 = 0.6931 / r.$$

Интенсивное культивирование

Интенсивную культуру *N. amabilis* получали при постоянной температуре суспензии $20 \pm 1^\circ\text{C}$ в режиме накопительного культивирования в фотобиореакторах плоскопараллельного типа с рабочим объемом 3 л, слоем 5 см, при круглосуточном освещении белыми люминесцентными лампами СЕРИЛ1LF36W/54-765 (“SVET24.BY” Польша), на питательной среде RS, подобранной для интенсивного культивирования *Cylindrotheca closterium* [15], концентрация компонентов которой уменьшена в 2 раза. Средняя облученность рабочей поверхности фотобиореактора составляла 150 мкмоль квантов м^{–2} с^{–1} (33 Вт м^{–2}). В процессе выращивания культуру барботировали воздухом (1.2 л воздуха на 1 л культуры в минуту) посредством компрессорной установки SERA air 550 R plus (“SERA”, Германия). Плотность культуры в начале накопительного культивирования составляла 0.2 г сухого вещества на 1 л.

Для определения плотности культуры сначала взвешивали сырую массу *N. amabilis* в полипропиленовых пробирках на аналитических весах CAUY-120 (“Cas”, Южная Корея) с погрешностью 0.1 мг после осаждения клеток центрифугированием (ОПН-3 при 3000 об мин^{–1} 1600 g в течение 2 мин), затем рассчитывали сухую массу, используя экспериментально полученный коэффициент связи между сухой и сырой массой ($k = 0.11$). Удельную скорость роста (r) рассчитывали по формуле (3).

Содержание белков в биомассе определяли по методу Лоури [16]. Концентрацию липидов определяли фосфованилиновым методом [17].

Липиды экстрагировали из 20 г сырой биомассы водорослей смесью хлороформ-этанол (2:1) до полного обесцвечивания биомассы. Экстракт 3–4 раза промывали водой для удаления нелипидных примесей. Содержание общих углеводов в биомассе определяли по методу Дюбуа [18]. Массовую долю золы водоросли устанавливали методом определения зольного остатка [17]. За окончательный результат измерения принимали среднее арифметическое значение двух результатов измерений. Фукоксантин в биомассе определяли методом тонкослойной хроматографии [19]. Содержание жирных кислот (ЖК) в составе суммарных липидов и метиловых эфиров жирных кислот (МЭЖК) выполняли по методу Кейтс [20], с пробоподготовкой, детально описанной в работе [21, 22].

МЭЖК определяли на газовом хроматографе Хроматэк Кристалл 5000.2 (“Хроматэк”, Россия) с пламенно-ионизационным детектором. Разделение МЭЖК проводили на капиллярной колонке BPX5 (“SGE Analytical Science”) длиной 60 м с внутренним диаметром 0.25 мм с толщиной неподвижной фазы 0.25 мкм в температурном интер-

вале от 40 до 280 еС в режиме программирования температуры. В качестве внешнего стандарта использовали смесь кислот “Supelco 37 component FAME mix”. Количественные значения МЭЖК получены путем сравнения относительных времен удерживания экспериментальных хроматограмм с хроматограммой смеси МЭЖК “Supelco 37 component FAME mix”.

Все измерения проводили в двух биологических и четырех аналитических повторностях. Статистическая достоверность основных параметров культивирования (сухая масса, содержание каротиноидов, фукоксатина, липидов и белков, число клеток), а также элементного состава оценивали при помощи стандартного критерия Стьюдента (t -критерий, $P = 0.95$). На рисунках и в таблицах приведены средние значения и их стандартные отклонения.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Наибольшая удельная скорость роста у *N. amabilis* (до трех делений в сут.) наблюдался в среде океанической соленостью 35–36‰ (рис. 2) при 14-часовом фотопериоде и освещенности 2.95 клк (рис. 3). В результате экспериментов была установлена способность водоросли расти в диапазоне соленостей 4–68‰, что свидетельствует о ее относительно широкой эвригалинности. В целом около трех делений в сут. наблюдалось при освещенности в промежутке от 2.00 до 4.75 клк.

На рис. 3 стрелкой отмечен коэффициент светового насыщения (I_k), который для 14-часового фотопериода оказался меньше единицы, что свидетельствует о минимальных энергетических затратах при достаточно высоком темпе деления.

Для исследования биохимических характеристик получена интенсивная культура с максимальной плотностью 12 г л⁻¹ сырой массы или 1.44 г л⁻¹ сухой массы.

После посева экспоненциально растущей культуры кривая роста *N. amabilis* в накопительной культуре характеризуется наличием экспоненциальной фазы в течение первых 3 сут, сменяющейся фазой замедления роста с последующим переходом в стационарную фазу. Культура достигала максимальной плотности на 8 сут выращивания (рис. 4). Для исследования биохимических характеристик получена интенсивная культура с максимальной плотностью 12 г л⁻¹ сырой массы или 1.44 г л⁻¹ сухой массы. Максимальная удельная скорость роста, определенная по изменению биомассы, составила 0.6 сут⁻¹ ($R^2 = 0.99$). На линейном участке роста максимальная продуктивность культуры составила 0.15 г л⁻¹ сут⁻¹ ($R^2 = 0.98$).

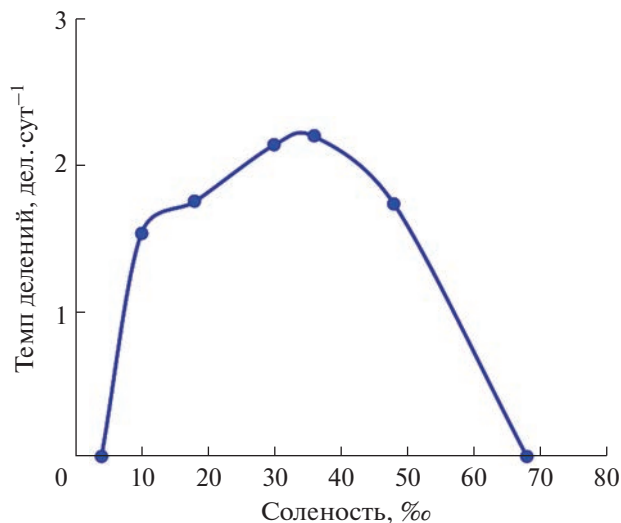


Рис. 2. Зависимость темпа деления клеток диатомовой водоросли *N. amabilis* от количества растворенных солей в искусственно приготовленной морской среде ESAW.

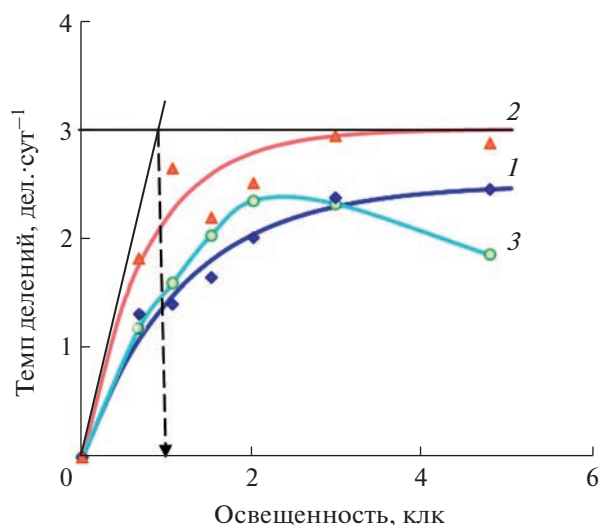


Рис. 3. Зависимость темпа деления *Nitzschia amabilis* от освещенности при разных фотопериодах: 1 – 10 ч, 2 – 14 ч, 3 – 24 ч.

Биохимический состав биомассы *N. amabilis* в разных фазах роста при накопительном культивировании представлен в табл. 1. По нашим данным при накопительном культивировании содержание массовой доли суммарных белков изменялось в зависимости от фазы роста от 40 до 45% сухой массы на 8 сут.

В экспоненциальной фазе роста в биомассе *N. amabilis* зарегистрированы относительно небольшие концентрации липидов и ПНЖК, которые возрастают в четыре раза при переходе культуры в стационарную фазу.

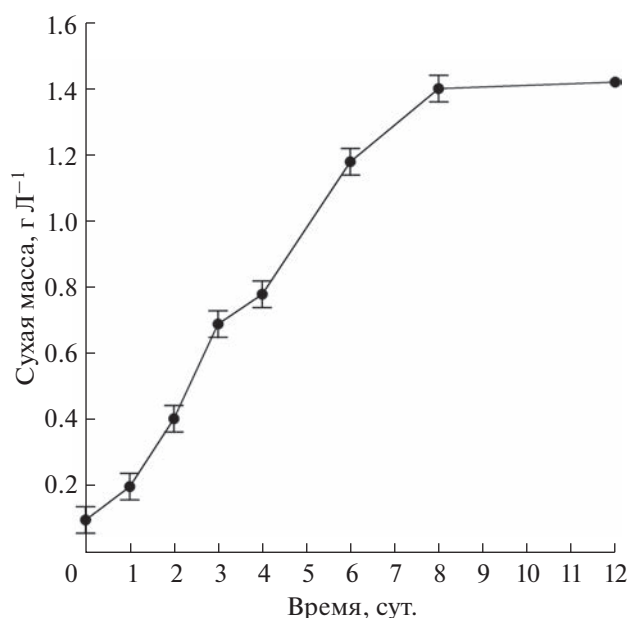


Рис. 4. Динамика плотности интенсивной культуры диатомовой водоросли *Nitzschia amabilis*.

Также в стационарной фазе и в фазе замедления роста наблюдалось активное накопление фукоксантина. В начале стационарной фазы роста (8 сут эксперимента) концентрация фукоксантина составляла 13.0 ± 0.4 мг г⁻¹ сухой массы (18.7 мг л⁻¹), на 12 сут эксперимента (5 сут стационарной фазы) концентрация фукоксантина достигала 17.0 ± 0.4 мг/г сухой массы (24.5 мг л⁻¹). Таким образом, скорость накопления фукоксантина в стационарной фазе роста составила 1.45 мг л⁻¹ сут⁻¹.

В составе ЖК изученного штамма на 8 сут роста были обнаружены ЖК с длиной цепи от 14 до 22 углеродных атомов (табл. 2).

Доминирующей среди моновенасыщенных жирных кислот была пальмитолеиновая, концентрация которой достигала 12.83 мг г⁻¹ сухой массы (36% от суммы ЖК). Среди полиненасыщенных

жирных кислот доминирующими были эйкозапентаеновая (24.72 мг г⁻¹ сухой массы или 16.2% от суммы ЖК), арахидоновая (7.9 мг г⁻¹ сухой массы или 8.5% от суммы ЖК) и докозагексаеновая (5.7 мг г⁻¹ сухой массы). Основная доля насыщенных ЖК приходилась на пальмитиновую кислоту ($C16:0$ 4.5 мг г⁻¹ сухой массы). В целом у исследуемого штамма преобладали ПНЖК (42 мг г⁻¹ сухой массы) при соотношении $\omega 6/\omega 3$ равном 0.3.

Рассчитана средняя скорость накопления каждой ЖК за весь период накопительного культивирования (табл. 3).

Следует отметить, что показатели продуктивности *N. amabilis* в отношении липидов, фукоксантина и ПНЖК в 2.5–3 раза выше в проточном режиме культивирования, чем в накопительном (табл. 4).

ОБСУЖДЕНИЕ

Из литературных источников известно, что темп клеточного деления для многих изученных видов редко превышает три деления в сутки, при этом коэффициент светового насыщения составляет от 3 до 9 клк [14]. У исследуемого вида *N. amabilis* энергетические затраты при высоком темпе деления ниже, чем у большинства изученных видов. При этом биохимический анализ показал, что *N. amabilis* наряду с морскими диатомеями *Odontella aurita*, *Attheya longicornis*, *Porosira glacialis* [23, 24], характеризуется высокой концентрацией докозагексаеновой кислоты в отличие от других бентосных диатомовых, таких как *Cylindrotheca closterium*, *Nanofrustulum shiloi*, *Entomoneis paludosa* [25]. Данный факт имеет большое прикладное значение, поскольку доминирующие эйкозапентаеновая, арахидоновая и докозагексаеновая кислоты обладают профилактическим действием против сердечнососудистых заболеваний, проявляют антимикробную и противоопухолевую активность [26].

Таблица 1. Биохимический состав диатомовой водоросли *Nitzschia amabilis* при накопительном культивировании

Состав	Фазы роста	
	экспоненциальная	начало стационарной фазы
Липиды, %	4.0 ± 0.1	16.0 ± 0.1
Белки, %	45.0 ± 0.4	40.0 ± 0.4
Углеводы, %	25.0 ± 0.2	17.0 ± 0.2
Зола, %	25.0 ± 0.3	27.0 ± 0.3
ПНЖК, мг г ⁻¹	10.0 ± 0.5	42.3 ± 0.5
Фукоксантин, мг г ⁻¹	8.0 ± 0.4	13.0 ± 0.4

Таблица 2. Жирнокислотный состав исследуемого штамма *Nitzschia amabilis*

Название ЖК	% от суммы ЖК	Концентрация, мг г ⁻¹ сухой массы
Миристиновая (C14:0)	6.7 ± 0.06	1.80 ± 0.04
Пентадекановая (C15:0)	0.64 ± 0.01	0.17 ± 0.07
Пальмитиновая (C16:0)	16.62 ± 0.56	4.50 ± 0.34
Гептадекановая (C17:0)	0.03	0.035 ± 0.007
Стеариновая (C18:0)	0.38 ± 0.01	0.1 ± 0.3
Сумма НЖК	24.37	6.6 ± 0.4
Мононенасыщенные ЖК		
Пальмитолеиновая (C16:1ω7)	36.27 ± 0.53	12.83 ± 0.53
Элаидиновая кислота транс-9 Octadecenoic acid (E) C18:1 (n-9)	0.92 ± 0.01	0.19 ± 0.01
Олеиновая Methyl cis-9-octadecenoate (C18:1ω9)	0.79 ± 0.04	0.463 ± 0.01
Сумма МЖК	37.98	13.45
Полиненасыщенные ЖК		
Methyl 6,9,12,15-hexadecatetraenoate	0.73 ± 0.01	0.39 ± 0.01
Гексадекатриеновая (C16:3ω4)	6.6	1.85 ± 0.31
γ-линоленовая (C18:3ω6)	1.59 ± 0.01	0.95 ± 0.01
Линолевая (C18:2ω6)	1.58 ± 0.02	0.58 ± 0.04
Арахидоновая (C20:4ω6)	8.56 ± 0.12	7.9 ± 0.31
цис-8,11,14-Эйкозатриеновая кислота C20:3 n-6	0.28 ± 0.04	0.16 ± 0.02
Эйкозопентаеновая (C20:5ω3)	16.27 ± 0.23	24.72 ± 0.61
Докозагексаеновая (C22:6ω3)	1.85 ± 0.01	5.71 ± 0.03
Сумма ПНЖК	37.48	42.26
МНЖК + ПНЖК	75.46	55.71
НЖК + МНЖК + ПНЖК	99.83%	62.31
ω6/ω3		0.3

Примечание: НЖК — насыщенные жирные кислоты, МНЖК — мононенасыщенные жирные кислоты, ПНЖК — полиненасыщенные жирные кислоты.

Соотношение ω6/ω3 показывает, что в исследуемом штамме преобладают ω-3 жирные кислоты. Известно, что ω-3 жирные кислоты используются для лечения таких заболеваний как гипертриглицеридемии, связанной с метаболическим синдромом, ожирения, диабета 2 типа и сердечно-сосудистых заболеваний. Продукты с низким соотношением ω6/ω3 ПНЖК (ω6/ω3 ≤ 1) могут использоваться в качестве профилактики и лечения таких заболеваний как аритмия сердца, инсульт и инфаркт миокарда, а также атеросклеротического изменения сосудов [27].

Микроводоросли можно рассматривать как перспективный источник фукоксантина для промышленного производства. Концентрация фукоксантина в микроводорослях значительно выше, чем в макроводорослях. Недавние исследования по-

казали, что фукоксантин и его производные обладают многими полезными эффектами для здоровья, включая противоопухолевое, антигипертензивное и противовоспалительное [28].

В проточном режиме культивирования средняя скорость биосинтеза фукоксантина и липидов у *N. amabilis* выше в 2.5 раза, а скорость биосинтеза полиненасыщенных жирных кислот выше в 2.7 раза. Фукоксантин внутри клетки нейтрализует активные формы кислорода, образующиеся в стрессовых условиях (стационарная фаза роста) и защищает клетку от внешних агрессивных условий среды обитания [29]. Таким образом, проточный режим культивирования для синтеза ценных веществ у *N. amabilis* более предпочтителен, чем накопительный. Проточное культивирование дает возможность достижения оптимальных усло-

Таблица 3. Скорости биосинтеза жирных кислот исследуемого штамма *Nitzschia amabilis* в накопительном режиме культивирования

Название ЖК	Концентрация, мг г ⁻¹ сухого веса	Средняя скорость биосинтеза, мг л ⁻¹ сут ⁻¹
Миристиновая (C14:0)	1.80 ± 0.04	0.29
Пентадекановая (C15:0)	0.17 ± 0.07	0.027
Пальмитиновая (C16:0)	4.50 ± 0.34	0.73
Гептадекановая (C17:0)	0.035 ± 0.007	0.0056
Стеариновая (C18:0)	0.1 ± 0.03	0.016
Сумма НЖК	6.6 ± 0.4	1.1
Мононенасыщенные ЖК		
Пальмитолеиновая (C16:1ω7)	12.83 ± 0.53	2.08
Элаидиновая кислота (E) C18:1 (n-9)	0.19 ± 0.01	0.031
Олеиновая кислота (C18:1ω9)	0.463 ± 0.01	0.007
Сумма МЖК	13.45	2.1
Полиненасыщенные ЖК		
Methyl 6,9,12,15-hexadecatetraenoate	0.39 ± 0.01	0.063
Гексадекатриеновая (C16:3ω4)	1.85 ± 0.31	0.3
γ-линоленовая (C18:3ω6)	0.95 ± 0.01	0.154
Линолевая (C18:2ω6)	0.58 ± 0.04	0.094
Арахидоновая (C20:4ω6)	7.9 ± 0.31	1.283
цис-8,11,14-Эйкозатриеновая кислота C20:3 n-6	0.16 ± 0.02	0.026
Эйкозопентаеновая (C20:5ω3)	24.72 ± 0.61	4.017
Докозагексаеновая (C22:6ω3)	5.71 ± 0.03	0.930
Сумма ПНЖК	42.26	6.86
МНЖК + ПНЖК	55.71	9
НЖК + МНЖК + ПНЖК	62.31	10.1
ω6/ω3	0.3	

Таблица 4. Показатели средней продуктивности исследуемого штамма *Nitzschia amabilis* при накопительном и проточном режимах культивирования

Параметры	Режим культивирования	
	накопительный	проточный
Максимальная плотность культуры	1.4 г л ⁻¹ сухой биомассы	—
Максимальная удельная скорость роста	0.6 сут ⁻¹	—
Максимальная продуктивность	150 мг л ⁻¹ сут ⁻¹	210 мг л ⁻¹ сут ⁻¹
Средняя скорость накопления фукоксантина	1.45 мг л ⁻¹ сут ⁻¹ *	—
	1.1 мг л ⁻¹ сут ⁻¹ **	2.73 мг л ⁻¹ сут ⁻¹
Средняя скорость накопления липидов	13.3 мг л ⁻¹ сут ⁻¹ **	33.6 мг л ⁻¹ сут ⁻¹
Средняя скорость накопления полиненасыщенных жирных кислот	3.2 мг л ⁻¹ сут ⁻¹ **	8.82 мг л ⁻¹ сут ⁻¹

Примечание: * — в стационарной фазе роста; ** — за весь период накопительного культивирования.

вий среды для роста клеток и биосинтеза ценных веществ, что обеспечивает в условиях стационарного динамического равновесия постоянность биохимического состава получаемой биомассы.

Таким образом, *N. amabilis*, характеризующаяся большим содержанием незаменимых ЖК, продемонстрировала высокую энергетическую эффективность при выращивании в культуре в сравнении с другими вышеупомянутыми видами диатомовых и может рассматриваться как перспективный объект для биотехнологии.

Работа выполнена в рамках государственного задания КНС-ПЗ РАН филиала ФГБУН ФИЦ ИнБЮМ “Изучение фундаментальных физических, физиолого-биохимических, репродуктивных, популяционных и поведенческих характеристик морских гидробионтов” (№ 121032300019-0). В работе были использованы материалы Научно-образовательного центра коллективного пользования ФИЦ ИнБЮМ “Коллекция диатомовых водорослей Мирового океана”. Биохимический анализ проведен в рамках выполнения темы государственного задания (№ 121030300149-0).

Авторы выражают благодарность Сергею Ивановичу Генкалу, Елене Леонидовне Невровой, Ринату Мухаметшаевичу Гогореву за помощь в определении видовой принадлежности штамма.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов исследования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Mann D.G., Vanormelingen P. An inordinate fondness? The number, distributions and origins of diatom species // J. Eukaryot. Microbiol. 2013. V. 60. P. 414. <https://doi.org/10.1111/jeu.12047>
2. Apt K.E., Behrens P.W. Commercial developments in microalgal biotechnology // J. Phycol. 1999. V. 35. P. 215.
3. Patil V., Kallqvist T., Olsen E., Vogt G., Gislerød H.R. Fatty acid composition of 12 microalgae for possible use in aquaculture feed // Aquac. Int. 2007. V. 15. P. 1. <https://doi.org/10.1007/s10499-006-9060-3>
4. Liyanaarachchi V.C., Nishshanka G.K.S.H., Premaratne R.G.M.M., Ariyadasa T.U., Nimarshana P.H.V., Malik A. Astaxanthin accumulation in the green microalga *Haematococcus pluvialis*: Effect of initial phosphate concentration and stepwise/continuous light stress // Biotechnol. Rep. 2020. V. 28: e0053.
5. Hustedt F. Die diatomeenflora des küstengebietes der Nordsee vom dollart bis zur elbemündung. I. Die diatomeenflora in den sedimenten der unteren ems sowie auf den watten in der Leybucht, des Memmert und bei der insel juist // Abhandlungen des NWVs. 1939. V. 31. P. 571.
6. Dunstan G.A., Volkman J.K., Barrett S.M., Leroi J.-M., Jeffrey S. Essential polyunsaturated fatty acids from 14 species of diatom (Bacillariophyceae) // Phytochem. 1994. V. 35. P. 155. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)90525-9](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)90525-9)
7. Witkowski A., Lange-Bertalot H., Metzeltin D. Diatom flora of marine coasts I. In: Lange-Bertalot H. (Ed.) iconographia diatomologica 7. Königstein: Koeltz Scientific Books, 2000. 895 p.
8. Suzuki H., Nagumo T., Tanaka J. *Nitzschia amabilis* nom. nov., a new name for the marine species *N. laevis* Hustedt // Diatom Res. 2010. V. 25. P. 223. <https://doi.org/10.1080/0269249X.2010.9705842>
9. Rivera P., Cruces F. Primer registro para Chile de las diatomeas marinas *Nitzschia amabilis*, *Nitzschia elegantula* y *Chaetoceros muelleri* var. *subsalsum* // RBMO. 2011. V. 46. P. 95.
10. Kaleli A., Kociolek J., Solak C.N. Taxonomy and distribution of diatoms on the Turkish Mediterranean coast, Dalyan (Muğla) // Mediterranean Marine Sci. 2020. V. 21. P. 201. <https://doi.org/10.12681/mms.17293>
11. Guiry M.D., Guiry G.M. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. 2023. <https://www.algaebase.org>; searched on 26 September 2023.
12. Andersen R.A., Kawachi M. Traditional microalgae isolation techniques. In: Algal culturing techniques / R. A. Andersen (Ed.). Burlington, MA: Elsevier Academic Press. 2005. P. 83. <https://doi.org/10.1016/B978-012088426-1/50007-X>
13. Полякова С.Л., Давидович О.И., Подунай Ю.А., Давидович Н.А. Модификация среды ESAW, используемой для культивирования морских диатомовых водорослей // Морской биологический журн. 2018. Т. 3. № 2. С. 73. <https://doi.org/10.21072/mbj.2018.03.2.06>
14. Финенко З.З., Ланская Л.А. Рост и скорость деления водорослей в лимитированных объемах воды // Экологическая физиология морских планктонных водорослей (в условиях культур) / Под общей редакцией К.М. Хайлова – Киев: Наук. Думка, 1971. С. 22.
15. Железнова С.Н., Геворгиз Р.Г., Бобко Н.И., Лелеков А.С. Питательная среда для интенсивной культуры диатомовой водоросли *Cylindrotheca closterium* (Ehrenb.) Reimann et Lewin – перспективного объекта биотехнологий // Актуальная биотехнология. 2015. Т. 14. № 3. С. 46.
16. Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin Phenol Reagent // J. Biol. Chem. 1951. V. 193. P. 265.
17. Агатова А.И., Аржанова Н. В., Лапина Н.М., Налетова И.А., Торгунова Н.И. Руководство по современным биохимическим методам исследования водных экосистем, перспективных для промысла и маркикультуры / Под ред. А.И. Агатовой. Москва: ВНИРО, 2004. 123 с.
18. Dubois M., Gilles K.A., Hamilton Y.K., Reber P.A., Smith F. Colometric method for determination of sugars and related substances // Analytical Chemistry. 1956. V. 28.

- Р. 350.
<https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
19. Рябушко В.И., Железнова С.Н., Нехорошев М.В. Влияние азота на накопление фукоксантина диатомовой водорослью *Cylindrotheca closterium* (Ehrenb.) Reimann et Lewin // *Algologia*. 2017. Т. 27. № 1. С. 15.
 20. Kates M. Techniques of lipidology: isolation, analysis and identification of lipids. Amsterdam—NY—Oxford: Elsevier, 1986. 464 p.
 21. Gevorgiz R.G., Gontcharov A.A., Zheleznova S.N., Malakhova L.V., Alyomova T.E., Maoka T., and Nekhoroshev M.V. Biotechnological potential of a new strain of *Cylindrotheca fusiformis* producing fatty acids and fucoxanthin // *Bioresource Technology Reports*. 2022. V. 18. P. 101098.
<https://doi.org/10.2139/ssrn.4081779>
 22. Геворгиз Р.Г., Железнова С.Н., Малахов А.С. Продукционные характеристики культуры диатомовой водоросли *Cylindrotheca closterium* (Ehrenberg) Reimann et Lewin в двухступенчатом хемостате // *Морской биологический журн.* 2023. Т. 8. № 1. С. 27.
<https://doi.org/10.21072/mbj.2023.08.1.03>
 23. Pasquet V., Ulmann L., Mimouni V., Guihéneuf F., Jacqueline B., Morant-Manceau A., Tremblin G. Fatty acids profile and temperature in the cultured marine diatom *Odontella aurita* // *J. Appl. Phycol.* 2014. V. 26. P. 2265.
<https://doi.org/10.1007/s10811-014-0252-3>
 24. Artamonova E.Y., Vasskog T., Eilertsen H.C. Lipid content and fatty acid composition of *Porosira glacialis* and *Attheya longicornis* in response to carbon dioxide (CO₂) aeration // *PLoS ONE*. 2017. V. 12: e0177703.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0177703>
 25. Bedoshvili Y., Podunay Y., Nikonova A., Marchenkov A., Bairamova E., Davidovich N., Likhoshway Y. Lipid and fatty acids accumulation features of *Entomoneis* cf. *paludosa* during exponential and stationary growth phases in laboratory culture // *Diversity*. 2021. V. 13. P. 459.
<https://doi.org/10.3390/d13100459>
 26. Yi Z., Xu M., Di X., Brynjolfsson S., Fu W. Exploring valuable lipids in diatoms // *Front. Mar. Sci.* 2017. V. 4. P. 29.
<https://doi.org/10.3389/fmars.2017.00017>
 27. Preston M., Salim R.M.A. Parenting style, proactive personality, and career decision self-efficacy among senior high school students // *Humanitas Indonesian Psychological J.* 2019. V. 16. P. 116.
 28. Shiratori K., Ohgami K., Ilieva I., Jin X.H., Koyama Y., Miyashita K., Kazuhiko Y., Satoru K., Shigeaki O. Effects of fucoxanthin on lipopolysaccharide-induced inflammation *in vitro* and *in vivo* // *Exp. Eye Res.* 2005. V. 81. P. 422.
<https://doi.org/10.1016/j.exer.2005.03.002>
 29. Méresse S., Fodil M., Fleury F., Chénais B. Fucoxanthin, a marine-derived carotenoid from brown seaweeds and microalgae: a promising bioactive compound for cancer therapy // *Intern. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. P. 1.
<https://doi.org/10.3390/ijms21239273>