

На правах рукописи



Чадова Ксения Андреевна

**ЛИПИДОМ МАКРОФИТА *UNDARIA PINNATIFIDA*
И ЭНДОФИТНЫХ ВОДОРОСЛЕЙ ПОРЯДКА EUSTOCARPALES:
ХАРАКТЕРИСТИКА И ВЛИЯНИЕ СРЕДЫ**

1.5.4 – Биохимия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Владивосток – 2023

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки
«Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского»
Дальневосточного отделения Российской академии наук
(ННЦМБ ДВО РАН)

Научный руководитель:

кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник
Веланский Петр Владимирович

Официальные оппоненты:

Озолина Наталья Владимировна
доктор биологических наук, главный научный
сотрудник, заведующая лабораторией
физиологии растительной клетки Сибирского
института физиологии и биохимии растений
СО РАН

Некрасов Эдуард Витальевич
кандидат биологических наук, старший
научный сотрудник лаборатории
интродукции Амурского филиала
Ботанического сада-института ДВО РАН

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования «Дальневосточный
государственный технический
рыбохозяйственный университет»,
г. Владивосток

Защита состоится «25» января 2024 г. в 10 часов на заседании диссертационного
совета 24.1.213.01 при Тихоокеанском институте биоорганической химии им. Г.Б. Елякова
ДВО РАН по адресу: 690022, г. Владивосток, проспект 100 лет Владивостоку, 159, ТИБОХ
ДВО РАН. Факс: (423)231-40-50, e-mail: dissovet@piboc.dvo.ru.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ТИБОХ ДВО РАН (г.
Владивосток, проспект 100 лет Владивостоку, 159, ТИБОХ ДВО РАН, www.piboc.dvo.ru).

Автореферат разослан «__» _____ 2023 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета, к.б.н.



Чингизова Е.А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования и степень его разработанности.

Бурые водоросли являются широко распространенным классом, включающим в себя как крупные макрофиты, так и нитчатые эндофиты. Водоросли этого класса отличаются высоким содержанием макро- и микроэлементов, и являются источником соединений с высокой пищевой ценностью и фармакологическим потенциалом, в том числе биологически активных липидов, а также $\omega 3$ и $\omega 6$ полиненасыщенных жирных кислот. Однолетняя бурая макроводоросль *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar, 1873 (Laminariales) – значимый объект культивирования и промысла, в естественных условиях часто инфицированный бурым нитчатым эндофитом *Laminariocolax aecidioides* (Rosenvinge) A.F. Peters, 1998 из порядка Ectocarpales. Заражение этим эндофитом является причиной потери товарного вида культивируемых макрофитов и может представлять угрозу для ламинариевых водорослей, являющихся распространенными ценозообразующими видами. В свою очередь, водоросли из порядка Ectocarpales имеют большой потенциал как источники водорастворимых полисахаридов с быстрым и стабильным ростом биомассы в контролируемых условиях.

На рост и развитие морских водорослей оказывают большое влияние абиотические (температура, освещенность) и биотические (эпи- и эндофитизм) факторы окружающей среды. Регуляция липидного состава является одним из ключевых механизмов адаптации к внешним условиям. В настоящее время все большую популярность приобретает стратегия анализа, предполагающая получение максимума информации о всех липидных молекулах организма (т.н. липидоме). А с развитием высокоэффективной жидкостной хроматографии и появлением высокоскоростных тандемных масс-спектрометров стал возможным быстрый анализ с идентификацией всех молекулярных видов сложных липидов образца, т.е. определение сочетания ацильных групп и их позиционного положения. На данный момент опубликовано несколько работ, посвященных изучению влияния факторов среды на липидом макроводорослей, но ни одно из исследований не представляет собой комплексный анализ молекулярных видов всех полярных и нейтральных липидов. Детальная информация о липидом бурых макроводорослей позволит найти новые варианты промышленного применения и расширить знания об их хемотаксономии и физиологии. Исследование динамики липидома под влиянием абиотических факторов среды даст дополнительную информацию о механизмах адаптации бурых водорослей, которая может использоваться для подбора оптимальных условий культивирования, а определение изменений в липидоме макрофита, вызванных инфицированием, позволит оценить степень воздействия эндофита на макрофита-хозяина и выявить возможные защитные механизмы.

Цель и задачи исследования.

Цель исследования: установить липидом бурых водорослей разных жизненных форм, выявить его изменения под влиянием абиотических (в естественных и контролируемых условиях) и биотических (в естественных условиях) факторов среды и определить механизмы адаптации.

Для достижения данной цели необходимо решить следующие задачи:

1. Установить липидный состав бурой макрофитной водоросли *Undaria pinnatifida* (Laminariales) и трех видов бурых нитчатых эндофитных водорослей *Laminariocolax aecidioides*, *Streblonema* sp. и *Streblonema corymbiferum* (Ectocarpales).
2. Оценить влияние условий культивирования (свет, температура) на липидный состав бурых нитчатых эндофитных водорослей *Streblonema corymbiferum* и *Streblonema* sp.
3. Установить сезонную динамику липидома *Undaria pinnatifida*.
4. Определить влияние инфицирования бурой нитчатой эндофитной водорослью *Laminariocolax aecidioides* на липидный состав *Undaria pinnatifida* в естественных условиях.

Научная новизна, теоретическая и практическая значимость исследования. В данной работе впервые описан полный липидом бурой макрофитной водоросли *U. pinnatifida* (Laminariales), а также трех видов бурых нитчатых эндофитных водорослей *L. aecidioides*, *Streblonema* sp. и *S. corymbiferum* (Ectocarpales), идентифицировано более 1000 молекулярных видов полярных и нейтральных липидов. Показано, что качественный состав молекулярных видов полярных липидов, за исключением бетаиновых, схож у всех видов водорослей. Выявлена характерная особенность водорослей рода *Streblonema*, выражающаяся в высоком уровне ЖК 16:1 ω 7 в составе триацилглицеридов. Анализ липидома с определением sn-положений ацильных остатков позволил определить особенности синтеза различных липидов в бурых водорослях. На примере *U. pinnatifida* была показана сезонная динамика полярного и нейтрального липидома. Впервые изучено влияние инфицирования бурым нитчатым эндофитом на липидом макрофита-хозяина. В экспериментальных условиях впервые определено влияние температуры и интенсивности освещения на липидом бурых нитчатых водорослей *Streblonema* sp. и *S. corymbiferum*.

Полученные данные расширяют знания о липидоме бурых водорослей и процессах их адаптации к изменяющимся условиям среды, информация может быть использована широким кругом специалистов для подбора оптимальных условий культивирования бурых водорослей и для разработки новых методов мониторинга состояния марикультуры.

Разработаны методы анализа классов липидов и молекулярных видов липидов с установлением sn-положений ацильных групп. Описанные методы могут использоваться в липидомных исследованиях фототрофных организмов.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Гликоглицеролипиды (кроме сульфохиновозилдиацилглицерина) и фосфоглицеролипиды (кроме фосфатидилглицерина) бурых водорослей образуются из диацилглицеринов, синтезированных в эндоплазматическом ретикулуме. Около половины фосфатидилглицерина и практически весь сульфохиновозилдиацилглицерин образуются из пластид-производных диацилглицеринов.
2. Механизм поддержания функционального состояния мембран при адаптации к низкой температуре у бурых водорослей включает в себя увеличение соотношения фосфатидилглицерин/сульфохиновозилдиацилглицерин, и накопление предельно ненасыщенных для конкретного класса молекулярных видов полярных липидов.
3. Повышение содержания моногалактозилдиацилглицерина и фосфатидилглицерина и снижение – дигалактозилдиацилглицерина и сульфохиновозилдиацилглицерина являются основными проявлениями адаптации к низкой освещенности у бурых водорослей.
4. Инфицирование бурой макроводоросли *Undaria pinnatifida* бурым нитчатым эндофитом *Laminariocolax aecidioides* приводит к увеличению ненасыщенности фосфоглицеролипидов в пораженных участках листовой пластины и накоплению триацилглицеридов с насыщенными жирными кислотами как в пораженных, так и в прилегающих участках.

Личный вклад автора. Автором был выполнен анализ литературных данных по теме исследования, планирование экспериментов и обсуждение результатов, написаны статьи и подготовлены доклады на конференции. Основная часть результатов, представленных в диссертации, получена лично автором.

Степень достоверности и апробация работы. Достоверность исследования обеспечивается использованием современных методов анализа и статистической обработкой экспериментальных данных.

Материалы диссертации были представлены в виде докладов на Ежегодной научной конференции Национального научного центра морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН (Владивосток, 2019), Международной научной конференции «Science. Research. Practice» (Санкт-Петербург, 2021), Международно-практической конференции «Научный

форум: медицина, биология и химия» (Москва, 2021), Международной конференции "Marine Biology in the 21st Century: Achievements and Development Outlook" (in Commemoration of the 100th Anniversary of the Birth of Academician Alexey V. Zhirmunsky) (Владивосток, 2021), XXIX и XX Международных конференциях студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2022» и «Ломоносов-2023» (Москва, 2022, 2023), 26-ой Пущинской школе-конференции молодых ученых с международным участием «Биология – наука XXI века» (Пущино, 2023).

Публикации. По теме диссертации опубликованы 3 статьи в научных журналах, рекомендованных ВАК РФ, и 7 тезисов докладов в сборниках конференций.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, литературного обзора, посвященного липидному составу морских водорослей и описанию его изменений под влиянием факторов среды, а также характеристике объектов исследования; экспериментальной части; обсуждения результатов; выводов; списка цитируемой литературы и приложений. Работа изложена на 210 страницах машинописного текста, содержит 4 таблицы, 55 рисунков, 4 приложения и 330 литературных ссылок.

Список используемых сокращений

БЛ – бетаиновые липиды, ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография, ГКДГ – глюкуронозилдиацилглицерин, ГЛ – гликоглицеролипиды, ДАГ – диацилглицерин, ДГДГ – дигалактозилдиацилглицерин, ДГТА – диацилглицерилгидроксиметил-*N,N,N*-триметил-бета-аланин, ДГТС – диацилглицерил-*N,N,N*-триметилгомосерин, ЖК – жирные кислоты, МГДГ – моногалактозилдиацилглицерин, МНЖК – мононенасыщенные жирные кислоты, НЖК – насыщенные жирные кислоты, НЛ – нейтральные липиды, ПЛ – полярные липиды, ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты, ССК II – светособирающий комплекс II, СХДГ – сульфохиновозилдиацилглицерин, ТАГ – триацилглицериды, ФГ – фосфатидилглицерин, ФГЭГ – фосфатидилгидроксиэтилглицерин, ФИ – фосфатидилинозит, ФЛ – фосфоглицеролипиды, ФХ – фосфатидилхолин, ФЭ – фосфатидилэтаноламин, ЦФИ – церамидфосфоинозит, ЭР – эндоплазматический ретикулум.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. Объекты исследования

Образцы бурой водоросли *Undaria pinnatifida* (Laminariales) собирали в заливе Петра Великого Японского моря в течение вегетационного периода (с ноября по июнь). Инфицированные бурой эндофитной водорослью *Laminariocolax aecidioides* (Ectocarpales) образцы *U. pinnatifida* собирали в ноябре (ювенильные особи) и июне (взрослые особи).

Бурый эндофит *L. aecidioides* выделяли из талломов *U. pinnatifida* (м. Зеленый, Уссурийский залив, Россия). Бурые эндофитные водоросли *Streblonema corymbiferum* и *Streblonema* sp. (Ectocarpales) выделяли из культуры гаметофитов *Eualaria fistulosa* (Laminariales, Phaeophyceae) (о. Беринга, Россия).

Для определения роли липидов в процессе адаптации к изменению температуры и интенсивности освещения, эндофитные водоросли *S. corymbiferum* и *Streblonema* sp. культивировали в колбах (200 мл) со стерильной морской водой, обогащенной средой ES (Provasoli, 1966), в течение трех недель при различных температурах (5-25°C), а также при различных интенсивностях света (0-200 мкмоль фотонов м⁻² с⁻¹).

2. Методы исследования

В работе использовали общепринятые методы выделения липидов. Анализ жирных кислот проводили с помощью газовой хроматографии с пламенно-ионизационным и масс-спектрометрическим детекторами в виде метиловых эфиров и диметилноксазолиновых производных, анализ классов и молекулярных видов липидов включал разделение методами гидрофильной и обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии и

детектирование с помощью тройного квадрупольного или времяпролетного масс-спектрометров. Все результаты представлены как средние значения трех измерений со стандартным отклонением ($\pm SD$). В данной работе применяли различные статистические методы. Порогом значимости считали $p < 0,05$.

3. Результаты и обсуждение

3.1 Липидом бурых водорослей

Состав классов липидов

В результате анализа липидного состава бурой макроводоросли *U. pinnatifida* (Laminariales), а также трех видов бурых эндофитных водорослей *L. aecidioides*, *S. corymbiferum* и *Streblonema* sp. (Ectocarpales) было обнаружено 12 классов ПЛ, в том числе четыре класса ГЛ – МГДГ, ДГДГ, СХДГ и ГКДГ, пять классов ФЛ – ФХ, ФЭ, ФИ, ФГ и ФГЭГ, один фосфосфинголипид – ЦФИ, два класса БЛ – ДГТС и ДГТА, а также один класс НЛ, представленный ТАГ. МГДГ, ДГДГ, СХДГ, ФГ, ФЭ, ФХ, ФИ, ФГЭГ и ТАГ являются типичными липидами бурых водорослей. ГКДГ распространен в высших растениях (Okazaki et al., 2013), одноклеточных водорослях (Eichenberger, Gribi, 1994), морских травах (Koelmel et al., 2019), а также в некоторых бактериях и грибах (Hölzl, Dörmann, 2007). В недавних исследованиях этот липид идентифицировали у бурых водорослей *U. pinnatifida* и *Sargassum natans* (Wang et al., 2022). Известно, что у высших растений ГКДГ синтезируется в хлоропластах из УДФ-глюкуроновой кислоты и ДАГ с помощью СХДГ-синтазы и имеет сходный жирнокислотный состав с СХДГ (Okazaki et al., 2013). У исследованных водорослей молекулярный состав ГКДГ и СХДГ также был схож. Функция ГКДГ не ясна, известно лишь, что он, как и СХДГ, может играть роль при фосфорном голодании – заменять ФГ в тилакоидных мембранах (Okazaki et al., 2015). Качественный состав молекулярных видов БЛ у *U. pinnatifida* и эндофитных водорослей был различен. Основными молекулярными видами ДГТА *U. pinnatifida* являлись 18:4/14:0, 20:5/14:0 и 18:4/20:5, а ДГТС – 18:4/16:0, 18:3/16:0 и 16:1/14:0. Ранее эти липиды в водорослях порядка Laminariales обнаруживались только в следовых количествах (Eichenberger et al., 1993; Rey et al., 2019; Wang et al., 2022). Предположительно, ДГТС и ДГТА в *U. pinnatifida* являются липидами экзогенного происхождения, их содержание составляло около 0,1% от суммы всех ПЛ, при этом ДГТА в некоторых образцах обнаружить не удалось. Доля БЛ в эндофитах также была незначительной. ДГТА ранее уже находили в эктокарповых водорослях (Muller, Eichenberger, 1994), его основными молекулярными видами являлись 14:0/14:0, 14:1/14:0, 20:5/14:0. ДГТС (18:1/18:1 – главный молекулярный вид) может являться эндогенным липидом эндофитов, поскольку была обнаружена зависимость между его составом и интенсивностью освещения. ЦФИ ранее был обнаружен в бурых водорослях только в одном исследовании (Vyssotski et al., 2017), этот липид типичен для красных водорослей, а также грибов и простейших (Hackett, Brennan, 1977; Khotimchenko et al., 2000; Kuhlmann et al., 2022; Smith, Lester, 1974). Состав молекулярных видов ЦФИ был схож у всех исследованных водорослей, а общее содержание этого липида не превышало 0,2% от суммы всех ПЛ. Наличие ЦФИ, скорее всего, указывает на присутствие в образцах грибной микрофлоры.

Состав жирных кислот

Всего идентифицировано 47 ЖК во фракциях полярных и нейтральных липидов, включая основные НЖК – 14:0, 16:0 и 18:0, МНЖК – 18:1 ω 9 и ПНЖК – 18:2 ω 6, 18:3 ω 3, 18:4 ω 3, 20:4 ω 6 и 20:5 ω 3. У всех водорослей в минорных количествах были обнаружены НЖК с нечетным числом атомов углерода, такие как 13:0, 15:0 и 17:0 (не более 1,6% каждой).

Состав молекулярных видов липидов

Идентифицировано не менее 1000 молекулярных видов полярных и нейтральных липидов (табл. 1). За исключением бетаиновых липидов, качественный состав основных

молекулярных видов липидов всех исследованных бурых водорослей был одинаков. В составе МГДГ и ДГДГ преобладали молекулярные виды НЖК/С18-ПНЖК, С18-ПНЖК/С18-ПНЖК и С20-ПНЖК/С18-ПНЖК. Главные молекулярные виды СХДГ и ГКДГ содержали 14:0, 16:0, 16:1 и С18 ЖК с разной степенью ненасыщенности. В составе ФГ преобладали С18 ЖК с разной степенью ненасыщенности, а также ЖК 16:0 и 16:1. Основными молекулярными видами ФЭ и ФХ являлись НЖК/С20-ПНЖК и С20-ПНЖК/С20-ПНЖК. ФИ содержал преимущественно 14:0 и 16:0 ЖК в sn-1 положении и С18 ЖК с разной степенью ненасыщенности в sn-2 положении. Для ФГЭГ характерно наличие двух основных молекулярных видов – 20:4/20:4 и 20:4/20:5, составляющих в сумме более 98%. Ацильная часть ЦФИ была представлена преимущественно 14:0 и 16:0 ЖК, а сфингозиновая часть – основаниями 22:0d и 22:1d. ТАГ содержали НЖК, МНЖК и ПНЖК с различной длиной цепи и степенью ненасыщенности.

Табл. 1. Основные молекулярные виды липидов бурых водорослей

Липид	Количество идентифицированных молекулярных видов	Основные молекулярные виды
Полярные липиды		
Гликоглицеролипиды		
МГДГ	146	18:4/18:4, 20:5/18:4, 18:3/18:4, 20:4/18:4
ДГДГ	79	20:5/18:4, 20:4/18:4, 16:0/18:3, 14:0/18:3, 14:0/18:3, 18:3/18:4, 20:5/18:3
СХДГ	109	18:1/16:0, 18:2/16:0, 18:3/16:0+16:0/18:3, 14:0/18:2, 14:0/16:0, 16:0/16:0
ГКДГ*	36	14:0/18:2, 14:0/18:3, 14:0/18:1, 16:1/18:1, 16:0/18:3, 16:0/18:1, 18:1/18:2, 18:1/18:1
Фосфоглицеролипиды		
ФГ	152	18:3/16:0, 16:0/18:2, 16:0/18:1, 18:3/18:3
ФЭ	96	20:4/20:4, 20:4/20:5, 16:0/20:4, 16:0/20:5, 20:5/20:5
ФХ	144	16:0/20:5, 16:0/20:4, 16:0/18:2, 16:0/18:3, 14:0/20:4, 14:0/20:5, 20:4/20:4, 20:4/20:5
ФИ	43	16:0/18:1, 16:0/18:2, 16:0/18:0, 16:0/18:3
ФГЭГ*	5	20:4/20:4, 20:5/20:4
Фосфосфинголипиды		
ЦФИ	28	22:1d/14:0, 22:0d/14:0, 22:1d/13:0, 22:0d/16:0, 22:1d/16:0
Нейтральные липиды		
ТАГ	219	14:0/18:1/16:0, 16:0/18:1/16:0, 16:0/18:1/18:0, 18:1/16:0/18:1, 16:0/18:2/20:5, 18:4/18:3/20:5, 20:4/18:4/20:5, 20:5/18:4/20:5

Приведены молекулярные виды, содержание которых превышало 5% от суммы всех молекулярных видов класса

* – sn-положение ацильных групп не определено

МГДГ, ДГДГ, СХДГ и ФГ являются компонентами пластидных (хлоропластных) мембран, тогда как ФХ, ФЭ, ФИ, ФГЭГ и БЛ – экстрапластидных (т.е. нехлоропластных мембран – плазматических, митохондриальных и т.д.). ФГ также может в небольшом количестве содержаться в экстрапластидных мембранах, а ФХ – во внешней мембране пластид. Известно, что в клетках растений и водорослей сборка предшественников глицеролипидов – ДАГ, происходит как в ЭР (эукариотический путь), так и в пластидах (прокариотический путь), тогда как синтез ЖК *de novo* происходит только в пластидах. В

растениях для синтеза ДАГ в ЭР свободные ЖК транспортируются из пластид посредством белкового комплекса FAX-1 (Li et al., 2015b). Для водорослей в настоящее время нет информации, как синтезированные в строме ЖК проходят через две, три, а иногда и четыре мембраны пластид. Большая часть ЖК, транспортируемая в ЭР, напрямую обратимо включается в ФХ с помощью ацил-КоА:лизо-ФХ-ацилтрансферазы, где подвергается элонгации и десатурации, и может высвободиться и использоваться для синтеза других липидов (Bates et al., 2007). Молекулы ДАГ, синтезированные в ЭР, предположительно, в виде ФК могут транспортироваться в оболочку пластид белковым комплексом TGD1-5 и использоваться для синтеза пластидных липидов (Wang, Benning, 2012; Warakanont et al., 2015). С другой стороны, донором ДАГ для синтеза пластидных липидов может являться ФХ, локализованный во внешней мембране пластид. Образование С20 ЖК у водорослей происходит в ЭР за счет элонгации и десатурации кислот, входящих в состав ФЛ, после чего они также могут транспортироваться в пластиды (Khozin et al., 1997). Известно, что из-за субстратной специфичности ацилтрансфераз лизофосфатидной кислоты пластидные ДАГ содержат в sn-2 положении С16 ЖК, в то время как ЭР-производные ДАГ – С18 ЖК.

Анализ липидомов четырех видов бурых водорослей из двух порядков (Laminariales, Ectocarpales) с определением позиционного положения ацильных групп в липидных молекулах позволил установить, что МГДГ и ДГДГ синтезируются из диацилглицериновых фрагментов, образованных преимущественно в ЭР, и транспортированных в пластиды. СХДГ был единственным липидом, который синтезировался преимущественно из пластидного ДАГ. Доля пластидного ФГ составляла от 24,2 до 54,4%. Было обнаружено три пула ТАГ – первый содержал в sn-2 положении С16 ЖК, что указывает на синтез этих ТАГ из ДАГ пластидного происхождения, второй содержал в sn-2 положении С18 ЖК, а в других положениях – НЖК и МНЖК, что указывает на образование этого пула *de novo* в ЭР, третий пул содержал С18 и С20-ПНЖК, что указывает на его синтез из ДАГ, содержащих ЖК, прошедшие элонгацию и десатурацию в составе ФХ в ЭР. В минорных количествах (менее 1,5% от суммы всех молекулярных видов) были обнаружены пластид-производные молекулярные виды экстрапластидных липидов, таких как ФХ, ФЭ и ДГТС, что указывает на возможный транспорт ДАГ из пластид для синтеза этих липидов.

Таким образом, на основе литературных и полученных нами данных была построена схема путей биосинтеза сложных липидов бурых водорослей (рис. 1).

Особенности липидного состава Undaria pinnatifida

Для анализа использовались нижние (Н) и верхние (В) участки листовой пластины образцов *U. pinnatifida*, собранных в ноябре (ювенильные особи) и июне (взрослые особи).

ГЛ преобладали во всех частях листовой пластины водорослей, при этом их суммарное содержание в нижних частях было меньше, по сравнению с верхними (52,2 против 58,2% в ноябре, 58,3 против 61,9% в июне (% от суммы всех ПЛ)). В нижних частях было выявлено более высокое содержание МГДГ (56,0 против 51,4% в ноябре и 74,2 против 59,3% в июне (% от суммы всех ГЛ)). Содержание ДГДГ, напротив, в нижних частях было меньше (19,2% против 24,3% в ноябре, 11,8 против 22,0% в июне (% от суммы всех ГЛ)). Аналогичные результаты были получены в исследовании, проведенном на бурой водоросли *Laminaria japonica* (Laminariales) (Khotimchenko, Kulikova, 2000), для которой, как и для *U. pinnatifida*, характерен интеркалярный рост (рост листовой пластины происходит за счет расположенной в ее основании меристемы). Подобные различия могут быть связаны как с возрастом исследованных тканей водорослей (нижняя часть талломов – более молодая, верхняя – более старая), так и с функциональными особенностями этих липидов. Старые ткани характеризуются более высокой интенсивностью фотосинтеза, и, соответственно, повышенным содержанием гликолипидов в целом. ДГДГ является конечным продуктом в

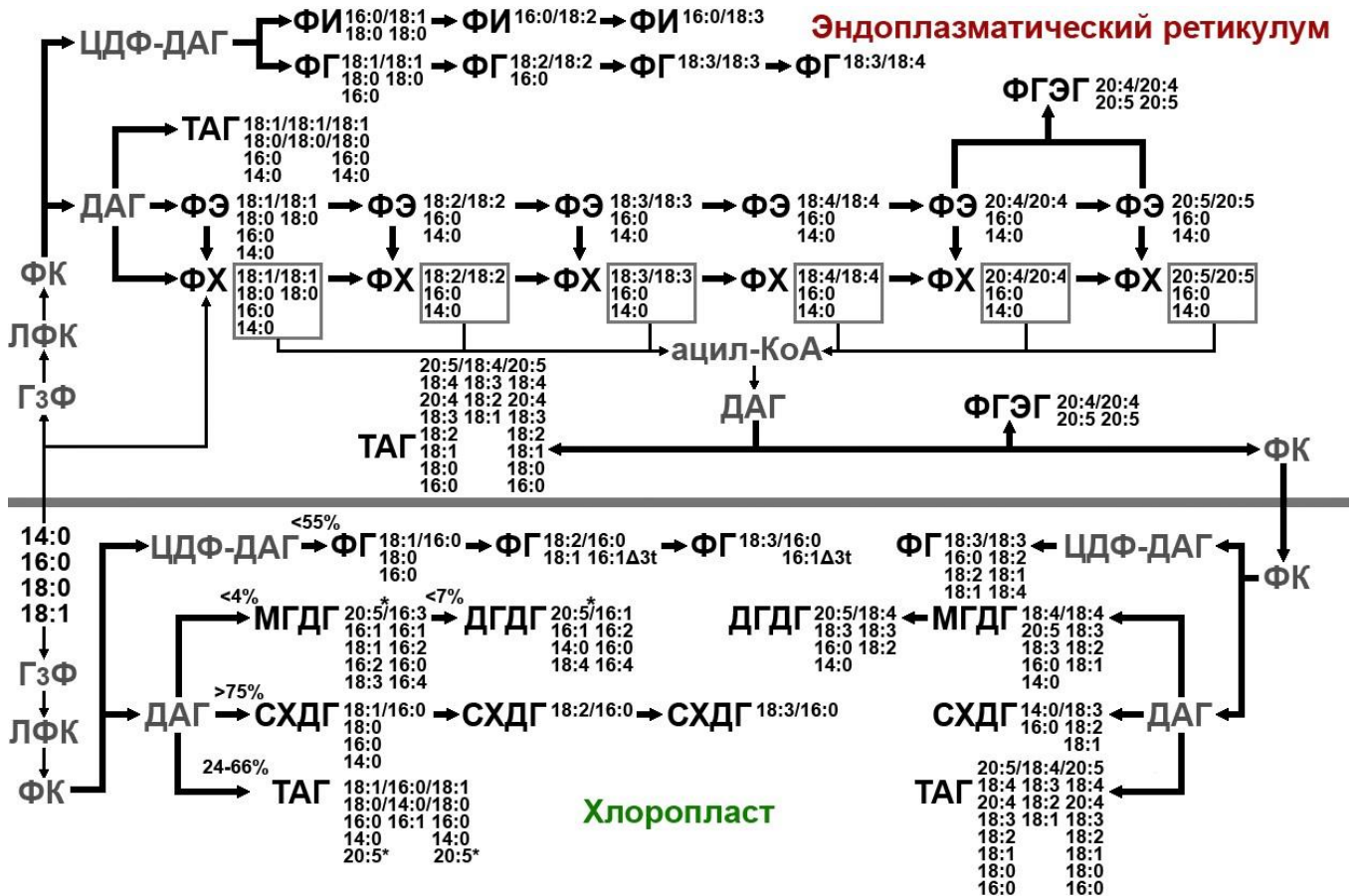


Рис. 1. Биосинтез липидов в бурых водорослях. Промежуточные продукты выделены серым шрифтом. Толстыми стрелками обозначен синтез молекул липидов, тонкими стрелками обозначен перенос жирных кислот. 20:5* – ЖК, синтезированная в ЭР и включенная в пластид-производный липид

цепи синтеза галактолипидов, поэтому в итоге в тканях с активно идущим фотосинтезом наблюдается повышение соотношения ДГДГ/МГДГ. Ранее такой эффект был отмечен при сравнении липидных профилей зеленых водорослей при увеличении интенсивности освещения (Widzowski et al., 2020). Содержание ФГ (31,5-36,7% от суммы всех ФЛ), ФХ (31,1-38,3% от суммы всех ФЛ), ФЭ (18,8-21,4% от суммы всех ФЛ) и ФГЭГ (3,8-4,7% от суммы всех ФЛ) не различалось в разных участках листовой пластины водорослей. Уровень ТАГ составлял от 5,3 до 9,7% от суммы всех липидов. Стоит отметить, что нами не были обнаружены значимые количества лизоформ полярных липидов.

В результате анализа ЖК у ювенильных особей в верхних частях листовой пластины было отмечено более высокое содержание 20:5 ω 3 (16,7 против 11,1% в ПЛ, 9,2 против 5,7% в НЛ) и более низкое – 16:0 и 18:1 ω 9 во фракции полярных липидов (13,6 против 16,2% и 6,3 против 8,8%, соответственно). У взрослых особей в верхней части листовой пластины в ПЛ содержание 18:4 ω 3 было выше, по сравнению с нижней (20,2 против 16,5%). Увеличенное количество 20:5 ω 3 в составе полярных липидов в верхних участках листовой пластины связано с необходимостью снижения вязкости тилакоидных мембран для ускорения электронного транспорта в фотосистемах (Mock, Kroon, 2002a). Было показано, что содержание 20:5 ω 3 коррелирует с содержанием хлорофилла (Cohen et al., 1988), и, соответственно, с интенсивностью фотосинтеза.

Анализ состава молекулярных видов липидов выявил некоторые различия между разными участками листовой пластины *U. pinnatifida*. Так, доля молекулярного вида ФГ 18:3/16:1 Δ 3t была выше в верхней части листовой пластины, по сравнению с нижней, что, возможно, обусловлено более развитой структурой хлоропластов в старых тканях, и,

соответственно, большим количеством ССК II, которые окружены молекулами ФГ, содержащими в sn-2 положении ФГ-специфичную ЖК 16:1Δ3t (Dubertret et al., 2002). Уровень ТАГ, содержащих С18- и С20-ПНЖК, в верхней части листовой пластины был выше, по сравнению с нижней, что может быть связано с более активным фотосинтезом, в результате которого образуются энергоемкие ЖК и запасаются в виде ТАГ, так как потребность в образовании новых ПЛ низкая.

Особенности липидного состава эндофитных водорослей L. aecidioides, S. corymbiferum и Streblonema sp.

Общее содержание ГЛ (71,1-78,3% от суммы всех липидов), ФЛ (13,3-16,4%) и ТАГ (13,3-16,4%) было сходным у всех видов эндофитов. МГДГ был доминирующим классом среди ГЛ; его содержание в *L. aecidioides* составляло 48,0% от суммы всех ГЛ, в *Streblonema sp.* – 46,6%, а в *S. corymbiferum* – 44,3%. Содержание ДГДГ в *L. aecidioides* и *Streblonema sp.* было ниже (24,7 и 25,5%, соответственно), чем в *S. corymbiferum* (33,7%). Содержание ГКДГ и СХДГ было сходно в *L. aecidioides* (2,8 и 24,4%, соответственно) и *Streblonema sp.* (2,9 и 25,0%, соответственно), но отличалось от такового в *S. corymbiferum* (1,2 и 20,9%, соответственно). ФГ и ФХ были преобладающими классами ФЛ. Уровень ФГ в *L. aecidioides* был выше (47,5% от суммы всех ФЛ), а ФХ – ниже (32,6%), чем в водорослях рода *Streblonema* (38,4-41,4% и 39,1-43,6%, соответственно). Содержание ФИ, ФЭ, ФГЭГ, ЦФИ и БЛ не различалось у трех видов эндофитов. Таким образом, по количественному составу гликолипидов *S. corymbiferum* отличалась от *L. aecidioides* и *Streblonema sp.*, тогда как *L. aecidioides* отличался от водорослей рода *Streblonema* содержанием главных ФЛ – ФГ и ФХ.

В результате анализа состава ЖК было выявлено более высокое содержание 16:0 во фракции полярных липидов *L. aecidioides*, по сравнению с эндофитами рода *Streblonema*. Во фракциях НЛ водорослей *Streblonema sp.* и *S. corymbiferum* была обнаружена высокая концентрация МНЖК 16:1ω7 (10,9% и 18,4%, соответственно), тогда как в НЛ *L. aecidioides* доля этой кислоты составляла не более 0,5%. Доля 18:2ω6 различалась у всех видов эндофитов и составляла от 5,1 до 9,2% в ПЛ, и от 6,0 до 13,1% в НЛ. Во фракции ПЛ *L. aecidioides* было обнаружено более низкое содержание таких ПНЖК, как 18:4ω3 и 20:4ω6, и более высокая доля 18:3ω3, по сравнению с эндофитами рода *Streblonema*. Во фракции НЛ уровень 18:4ω3 не различался у трех видов эндофитов (2,1-2,8%), тогда как доля 18:3ω3 в *L. aecidioides* была выше, по сравнению со *Streblonema sp.* и *S. corymbiferum* (9,6% против 5,4 и 6,8%, соответственно). Содержание 20:5ω3 было сходным в ПЛ и НЛ у *L. aecidioides* (15,1 и 8,8% соответственно) и *Streblonema sp.* (17,0 и 9,4% соответственно), но различалось с *S. corymbiferum* (19,9% в ПЛ, 15,4% в НЛ). Таким образом, между двумя родами бурых водорослей различия прослеживались в составе как полярных, так и нейтральных липидов. Наиболее заметно водоросли рода *Streblonema* отличались от *L. aecidioides* содержанием ЖК 16:1ω7, особенно во фракции НЛ, что, возможно, связано с разной специфичностью/активностью пластидных Δ9 десатураз.

Различий в содержании молекулярных видов полярных липидов у эндофитов разных родов не было обнаружено. Состав молекулярных видов липидов *L. aecidioides, S. corymbiferum и Streblonema sp.*, за исключением БЛ, был аналогичен таковому *U. pinnatifida*. Анализ позиционного положения ацильных групп в ТАГ показал наличие четких хемотаксономических различий между двумя родами бурых эндофитов. Так, в *L. aecidioides* преобладали пластид-производные молекулярные виды ТАГ с С16 ЖК и ЭР-производные виды с С18-ПНЖК во всех sn-положениях, тогда как в водорослях рода *Streblonema* – пластид-производные виды ТАГ, содержащие преимущественно ЖК 16:1, а также ЭР-производные молекулярные виды, содержащие преимущественно ЖК 20:5 в sn-1,3 положении.

3.2 Влияние температуры на липидный состав бурых эндофитных водорослей *S. corymbiferum* и *Streblonema* sp.

Для анализа использовались образцы эндофитных водорослей *S. corymbiferum* и *Streblonema* sp., культивированные в течение трех недель при температурах 5°C, 10°C, 15°C, 20°C и 25°C в среде ES (Provasoli, 1966) при интенсивности света 200 мкмоль фотонов м⁻² с⁻¹ в режиме 12 ч. свет : 12 ч. темнота.

Для получения полной картины адаптивной реорганизации липидного состава мембран были исследованы изменения как на уровне классов липидов, так и на уровне молекулярных видов отдельных классов. В результате анализа не было обнаружено зависимости количества МГДГ и ДГДГ от температуры (рис. 2). Высокая температура индуцировала увеличение содержания СХДГ в обоих эндофитах. Было показано, что СХДГ необходим для устойчивости ФС II к стрессовым условиям, таким как высокая температура и сильное облучение (Sato et al., 2003). Липиды с насыщенными ацильными цепями упаковываются с более высокой плотностью и склонны к образованию гелевых фаз. Поскольку СХДГ – наиболее насыщенный липид пластидных мембран, увеличение его содержания при повышенной температуре среды может компенсировать высокую долю высоко ненасыщенных галактолипидов. Со снижением температуры уровень СХДГ снижался, тогда как доля ФГ – увеличивалась. При низкой температуре увеличение уровня ФГ, содержащего ПНЖК, снижает плотность фазы и обеспечивает необходимый уровень структурной гибкости мембран. При этом сохраняется необходимое количество анионных липидов, что, по-видимому, является важным для правильного функционирования фотосинтетического аппарата. Было показано, что в условиях фосфатной депривации СХДГ может частично заменять ФГ (Yu et al., 2002). При генетических дефектах синтеза СХДГ у фотосинтезирующей бактерии *Rhodobacter sphaeroides* наблюдалось накопление ФГ, что подтверждало присутствие компенсаторного эффекта (Benning et al., 1993). Однако, наличие подобного явления при низкой температуре ранее не было описано. Известно, что эти два липида не могут быть полностью взаимозаменяемы, поскольку их функции в фотосинтезе различны (Wada, Murata, 2007). При низкой температуре наблюдалось увеличение содержания ФХ. ФХ служит основным субстратом для липид-связанных десатураз (Botella et al., 2017) и, следовательно, играет роль в регуляции текучести мембран при акклиматизации фотосинтезирующих организмов к низким температурам. На содержание ФИ, ФГЭГ, ЦФИ, БЛ и ТАГ температура не оказывала влияния.

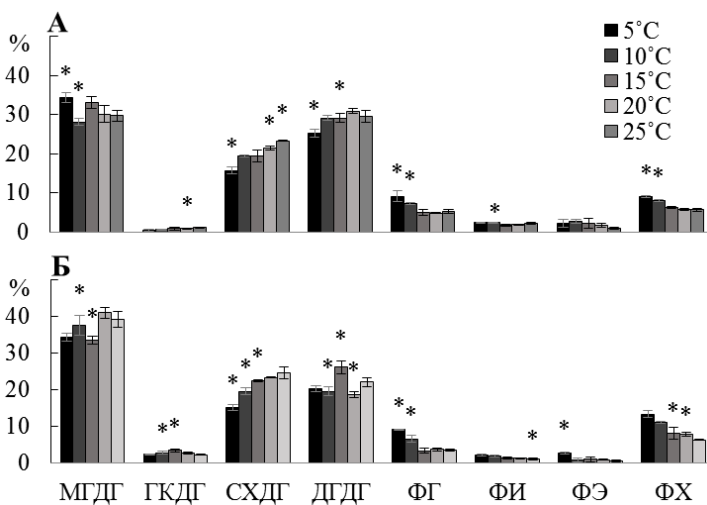


Рис. 2 – Содержание классов ПЛ (% от суммы всех ПЛ) *Streblonema corymbiferum* (А) и *Streblonema* sp. (Б) при различных температурах. Звездочкой отмечены достоверные отличия от последующей точки данных (HSD test, $p < 0,05$)

Полученные нами результаты свидетельствовали, что степень вклада разных классов липидов в процесс адаптации бурых водорослей к низким и высоким температурам различна. В целом, зависимость между уровнем насыщенности и температурой прослеживалась во всех классах липидов эндофитов. Так, содержание молекулярных видов МГДГ с наиболее ненасыщенными ЖК (18:4/18:4 и 20:5/18:4) было максимальным при низкой температуре (5°C), а с наименее

ненасыщенными ЖК (18:2/18:4, 18:3/18:2, 18:1/18:3, 20:5/18:2 у обоих эндофитов и 20:5/18:1 у *S. corymbiferum*) – при высокой температуре (25°C) (рис. 3). Повышение температуры также индуцировало увеличение содержания 20:4/20:4 МГДГ в обоих эндофитах. Уровень 20:5/18:3 у *S. corymbiferum* увеличивался с повышением температуры (с максимальным значением при 25°C), тогда как у *Streblonema* sp. содержание этого вида было максимальным при средней температуре среды.

При низкой температуре увеличивалось содержание наиболее ненасыщенных видов ДГДГ (18:4/18:4 и 20:5/18:4), а при высокой – менее ненасыщенных молекулярных видов (20:4/18:3, 20:5/18:2, 20:5/18:1 у обоих эндофитов и 18:3/18:2 у *Streblonema* sp.) (рис. 3). Так же, как и в составе МГДГ, уровень 20:5/18:3 ДГДГ увеличивался у *S. corymbiferum* с максимальным значением при 25°C, в то время как у *Streblonema* sp. максимальное содержание этого вида наблюдалось при 15°C. Таким образом, в составе галактолипидов адаптация к низким температурам происходила за счет увеличения содержания молекулярных видов с ЖК 18:4 и 20:5, а к высоким – с ЖК 18:3, 18:2 и 18:1.

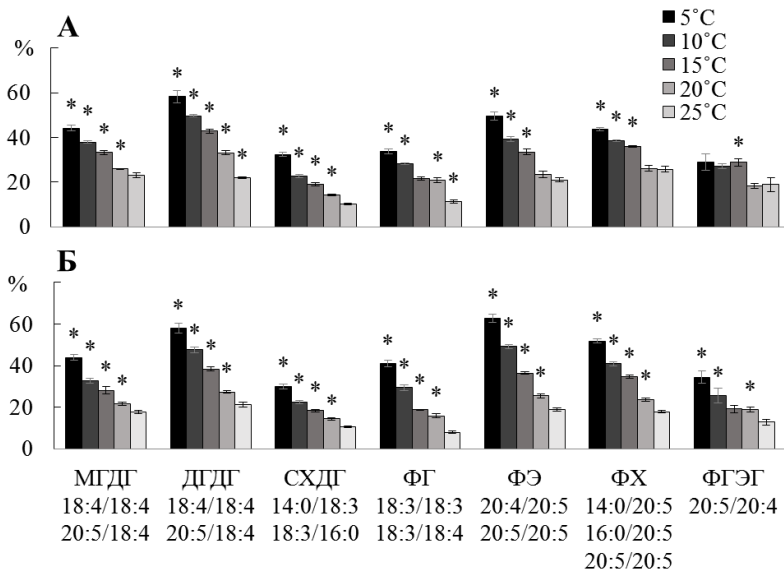
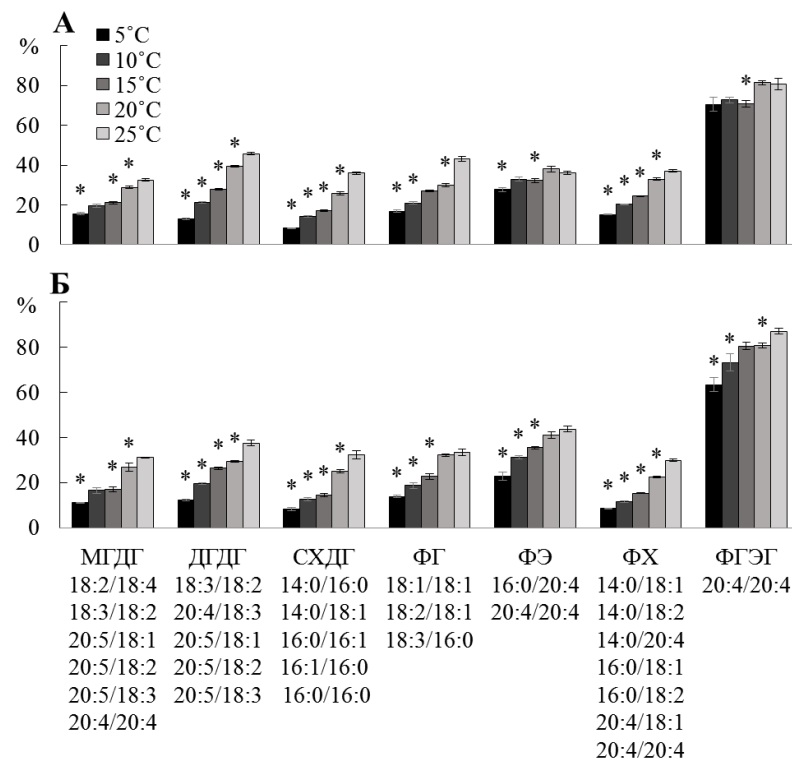


Рис. 3 – Содержание молекулярных видов ПЛ (% от суммы всех молекулярных видов класса) *Streblonema corymbiferum* (А) и *Streblonema* sp. (Б) при различных температурах. Звездочкой отмечены достоверные отличия от последующей точки данных (HSD test, $p < 0,05$)



Содержание наиболее ненасыщенных молекулярных видов СХДГ (14:0/18:3 и 18:3/16:0) увеличивалось при низких температурах, тогда как содержание наиболее насыщенных видов (14:0/16:0, 14:0/18:1, 16:0/16:0, 16:0/16:1, 16:1/16:0) – при высоких (рис. 3). Доля главного молекулярного вида 18:1/16:0 была максимальной при средней температуре.

В составе ФГ при снижении температуры увеличивалось содержание наиболее ненасыщенных видов 18:3/18:3 и 18:3/18:4, тогда как при увеличении температуры повышался уровень менее ненасыщенных видов 18:1/18:1, 18:2/18:1 и 18:3/16:0 (рис. 3). Таким образом, в составе СХДГ и ФГ адаптация к низким температурам сопровождалась увеличением содержания

молекулярных видов с $\omega 3$ ПНЖК (18:3 в СХДГ, 18:3 и 18:4 в ФГ), а к высоким – с НЖК и МНЖК.

Увеличение содержания высоконенасыщенных молекулярных видов пластидных липидов при низких температурах необходимо для поддержания текучести тилакоидных мембран и, следовательно, эффективности фотосинтеза. ПНЖК обладают высокой структурной гибкостью, позволяющей липиду подстраиваться под различные формы многочисленных фотосинтетических белков. Кроме того, при фотоингибировании, вызванным охлаждением, степень ненасыщенности липидов тилакоидных мембран влияет на скорость репарации ФС II, в процессе которой происходит замена поврежденного белка D1 (Gombos et al., 1994; Moon et al., 1995). При высоких температурах увеличение содержания наиболее насыщенных молекулярных видов пластидных липидов способствует поддержанию жидкокристаллического состояния мембран.

Фосфолипиды ФХ, ФЭ и ФГЭГ являются основными структурными компонентами экстрапластидных мембран. При низкой температуре увеличивалось содержание молекулярных видов ФЭ 20:4/20:5 и 20:5/20:5, тогда при высокой – содержание видов 20:4/20:4 и НЖК/20:4 (рис. 3). ФХ, самый разнообразный по составу класс полярных липидов; является промежуточным звеном в синтезе других фосфолипидов. При снижении температуры увеличивалось содержание предельно ненасыщенного молекулярного вида ФХ 20:5/20:5 (рис. 3). Низкая температура также индуцировала увеличение содержания видов, содержащих ЖК 20:5 в одном из sn-положений (16:0/20:5, 20:5/18:3 у обоих эндофитов, 14:0/20:5 у *Streblonema* sp.). При высокой температуре увеличивалось содержание молекулярных видов ФХ с менее ненасыщенными ЖК (14:0/18:1, 14:0/18:2, 16:0/18:1, 16:0/18:2, 20:4/18:1 у обоих эндофитов, 14:0/20:4, 16:0/20:4, 20:4/18:2 у *Streblonema* sp.). Уровень более ненасыщенного молекулярного вида ФГЭГ 20:5/20:4 увеличивался при снижении температуры, тогда как содержание менее ненасыщенного вида 20:4/20:4 увеличивалось при повышении температуры (рис. 3).

Хорошо известно, что уровень ненасыщенности мембранных липидов повышается в ответ на более низкие температуры для поддержания текучести клеточных мембран на оптимальном уровне. В ФХ, ФЭ и ФГЭГ это происходило, главным образом, за счет изменения соотношения $20:4\omega 6/20:5\omega 3$ ЖК. Ранее было показано, что бурые водоросли продуцируют максимальное количество $\omega 6$ ПНЖК в теплые месяцы и $\omega 3$ ПНЖК в холодные месяцы (Nonya et al., 1994). Однако, в данном случае, по нашему мнению, дело не в регуляции $\omega 3/\omega 6$ путей синтеза ЖК, а в общем количестве двойных связей. Известно, что водоросли обладают $\omega 3$ -десатуразами, способными конвертировать $\omega 3$ -ЖК из $\omega 6$ -ЖК (Khozin et al., 1997).

Молекулярный состав ФИ практически не изменялся под влиянием температуры. Высокая температура индуцировала небольшое увеличение наиболее насыщенных молекулярных видов ФИ (16:0/18:0, 14:0/18:1, 16:0/16:1) только в *S. corymbiferum*. При низких температурах увеличивался уровень наиболее ненасыщенного молекулярного вида ДГТС 18:1/18:2, содержание менее ненасыщенного вида 18:1/18:1 был максимальным при средних температурах, а содержание наименее ненасыщенного вида 16:0/18:1 – при высоких.

Доля молекулярных видов ТАГ, содержащих НЖК и МНЖК, увеличивалась при высокой температуре, а содержащих С18 и С20-ПНЖК – при низкой. Обратной корреляции между содержанием молекулярных видов полярных липидов с аналогичными ЖК и ТАГ не было обнаружено. Таким образом, наблюдаемые тенденции изменения состава молекулярных видов ТАГ отображали общую направленность синтеза ЖК.

Известно, что высшие растения могут регулировать уровень ненасыщенности липидов, изменяя степень включения эукариотического и прокариотического пути синтеза.

В эндифитах при повышении температуры было обнаружено незначительное увеличение вклада прокариотического пути в биосинтез МГДГ и ДГДГ. При низких температурах увеличивался уровень эукариотического ФГ, что может быть связано с особенностями десатурации ФГ в пластидах. Так, максимальное количество двойных связей, которое образуется в жирнокислотном остатке в *sn*-2 положении ЭР-производного ФГ, равно четырем, тогда как в ЖК 16:0 в *sn*-2 положении пластидного ФГ возможно образование только одной двойной связи.

3.3 Влияние интенсивности света на липидный состав бурых эндифитных водорослей *S. corymbiferum* и *Streblonema* sp.

Для анализа использовались образцы эндифитных водорослей *Streblonema corymbiferum* и *Streblonema* sp., культивированные в среде ES (Provasoli, 1966), в течение трех недель при температуре 15°C, интенсивностях света 0, 5, 12, 20, 50, 100, 150 и 200 мкмоль фотонов м⁻² с⁻¹ и фотопериоде 12 часов свет : 12 часов темнота.

Доля МГДГ увеличивалась по мере снижения интенсивности света, достигая максимального значения при минимальной освещенности, при этом содержание ДГДГ и СХДГ снижалось (рис. 4). Аналогичная тенденция наблюдалась у диатомовых водорослей, акклиматизированных к низкому уровню освещения; при этом было показано, что повышение соотношения МГДГ/ДГДГ сопровождается накоплением хлорофилла *a* и увеличением скорости потока электронов между пластохинонами, что в совокупности приводило к усилению фотосинтетической активности (Mock, Kroon, 2002b). МГДГ ответственен за укладку тилакоидов в хлоропластах и способствует димеризации комплексов ФС II (Lee, 2000). При высокой интенсивности освещения содержание МГДГ снижалось, а ДГДГ – увеличивалось. Было показано, что такая модификация опосредует изменение структуры мембран, что является необходимым для обновления белка D1 в ФС II (Pribil et al., 2014). ДГДГ играет важную роль в цикле репарации ФС II при повышенной инсоляции, а также в стабилизации белков марганцевого кластера и контактов между тримерами ССК II (Mizusawa et al., 2009; Mizusawa, Wada, 2012; Schaller et al., 2011). Таким образом, наблюдаемые перестройки липидного состава тилакоидных мембран, вероятно, являются адаптивными реакциями, обеспечивающими подвижность субъединиц фотосистем, тем самым поддерживая их работу. Максимальное относительное содержание ФГ наблюдалось при низкой (5-20 мкмоль фотонов м⁻² с⁻¹) интенсивности света. Известно, что ФГ является критически важным ФЛ для функционирования фотосинтетического аппарата, он необходим для сборки обеих фотосистем (Sakurai et al., 2003). Как анионный липид, он взаимодействует с положительно заряженными участками белков на поверхности мембран (не только пластидных). На основе ФГ образуются обособленные мембранные кластеры с определенным липидным и белковым составом (Vanounou et al., 2003). Таким образом, повышение содержания ФГ необходимо для увеличения эффективности фотосинтеза при низкой освещенности. Аналогичный эффект был описан у арабидопсиса (Yu et al., 2021).

Значительных изменений уровня минорных полярных липидов и ТАГ при различной интенсивности освещения обнаружено не было.

По характеру светозависимых изменений содержания молекулярные виды МГДГ и ДГДГ можно разделить на две группы – виды с максимальным уровнем в диапазоне 20-50 мкмоль фотонов м⁻² с⁻¹, и виды с пониженным содержанием в данном диапазоне (рис. 5). Первая группа содержала ω6 и ω3 ПНЖК, вторая – только ω3 ПНЖК. Увеличение количества более ненасыщенных молекулярных видов МГДГ, содержащих только ω3 ПНЖК при низкой интенсивности света необходимо для повышения текучести мембран и, следовательно, скорости электронного транспорта (Mock, Kroon, 2002b). При высоком уровне освещенности увеличение содержания МГДГ с ω3 ПНЖК может являться

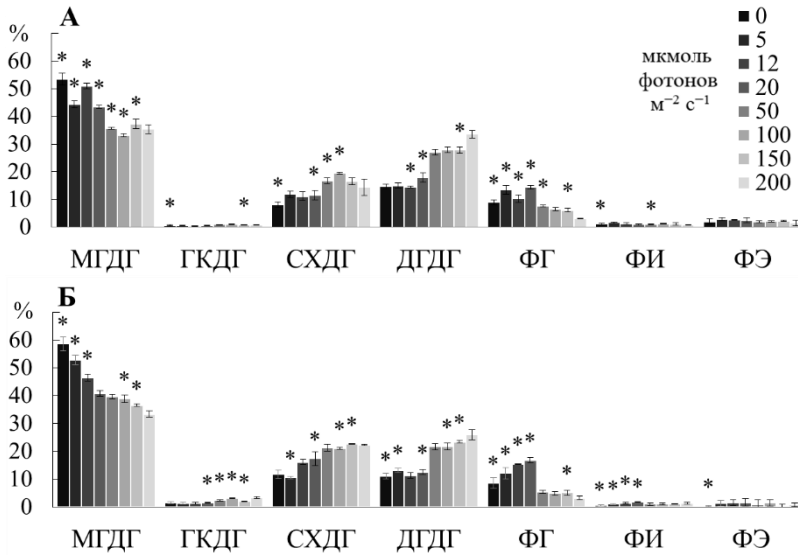


Рис. 4 – Содержание ПЛ (% от суммы всех ПЛ) *Streblonema corymbiferum* (А) и *Streblonema sp.* (Б) при различных интенсивностях света. Звездочкой отмечены достоверные отличия от последующей точки данных (HSD test, $p < 0,05$)

следствием высокой продуктивности фотосинтеза или же связано с функцией этого липида в виолаксантиновом цикле, защищающим хлоропласты от избыточного облучения (Goss, Latowski, 2020). Ранее было показано, что в условиях высокой освещенности у ДГДГ-дефицитных микроводорослей ингибируется репарация ФС II. Вероятно, что высоконасыщенный ДГДГ (20:5/18:4 и 20:5/18:3) может быть необходим для поддержания скорости этого процесса (Mizusawa et al., 2009).

В составе ФГ при высокой интенсивности света увеличивалось содержание наиболее насыщенных молекулярных видов (16:0/18:1 и 18:1/18:1), что указывает на усиление синтеза этого липида *de novo* в ЭР, при этом содержание молекулярных видов ФГ с ПНЖК снижалось (рис. 5). Уровень 18:3/16:1Δ3t был выше при низкой и, особенно, при высокой интенсивности света, по сравнению со средней, тогда как уровень 18:3/16:0, напротив, был максимальным в среднем диапазоне. Очевидно, что при крайних значениях освещенности превращение 18:3/16:0 → 18:3/16:1Δ3t с участием десатуразы FAD 4 (Gao et al., 2009) протекало более интенсивно. Увеличение содержания молекулярного вида ФГ с 16:1Δ3t ФГ-специфичной ЖК указывает на интенсивную тримеризацию ССК II (Gray et al., 2005). Основная функция ССК II – поглощение света и передача энергии возбуждения на реакционный центр ФС II. При ярком освещении, когда количество поглощенной энергии превышает фотосинтетическую способность, ССК II обеспечивает фотозащиту путем рассеивания избыточной энергии в виде тепла (de Bianchi et al., 2010).

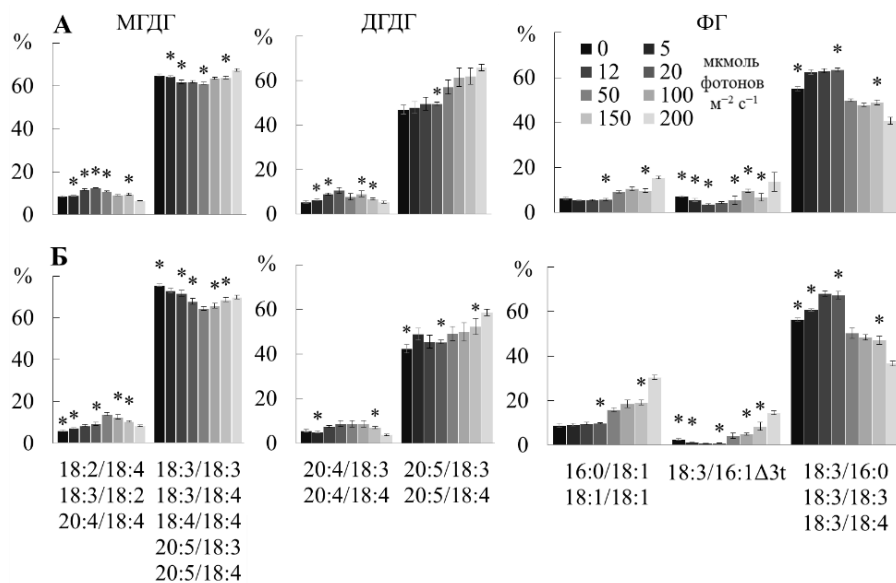


Рис. 5 – Содержание молекулярных видов МГДГ, ДГДГ и ФГ (% от суммы всех молекулярных видов класса) *Streblonema corymbiferum* (А) и *Streblonema sp.* (Б) при различных интенсивностях света. Звездочкой отмечены достоверные отличия от последующей точки данных (HSD test, $p < 0,05$)

Уровень освещенности влиял и на состав экстрапластидных липидов, хотя их общее содержание оставалось относительно стабильным. Высокая

интенсивность света индуцировала увеличение содержания высоконасыщенных молекулярных видов ФЭ С20/С20 (рис. 6), что свидетельствует об усилении синтеза ЖК. При недостаточном освещении наблюдалось увеличение доли молекулярного вида ФЭ 18:1/16:1; это было особенно заметно у *Streblonema* sp., где его содержание составляло 0,3% при максимальном уровне освещения и 26,3% – при минимальном. Наличие ЖК 16:1 в sn-2 положении указывает на тот факт, что диацилглицериновый фрагмент этого молекулярного вида синтезирован в пластидах. Ранее этот вид ФЭ обнаруживали в минорных количествах в некоторых водорослях (Coniglio et al., 2021; Lopes et al., 2021). ФЭ содержится исключительно в экстрапластидных мембранах клеток. В настоящее время неизвестно, существует ли механизм транспорта пластид-производных ДАГ в ЭР для синтеза экстрапластидных липидов. Таким образом, происхождение и функциональная роль этого молекулярного вида ФЭ остаются неясными. Динамика содержания молекулярных видов ФХ было сходной с таковой у МГДГ и ДГДГ, что подтверждает роль ФХ как донора ПНЖК для пластидных липидов.

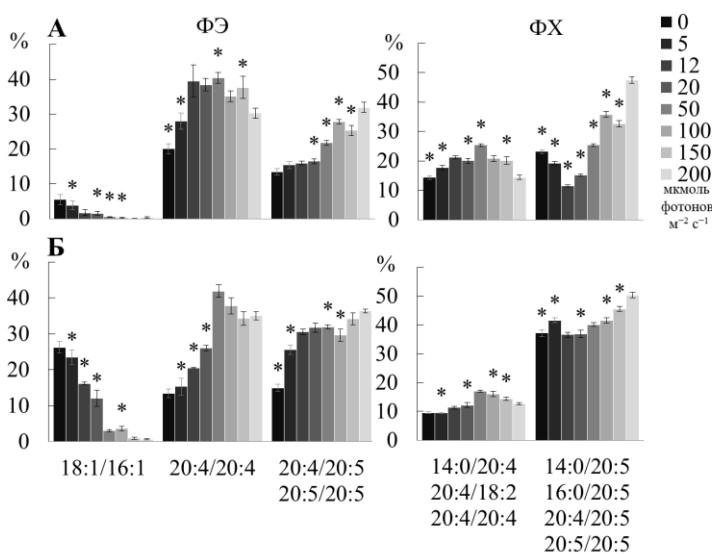


Рис. 6 – Содержание молекулярных видов ФЭ и ФХ (% от суммы всех молекулярных видов класса) *Streblonema corymbiferum* (А) и *Streblonema* sp. (Б) при различных интенсивностях света. Звездочкой отмечены достоверные отличия от последующей точки данных (HSD test, $p < 0,05$)

вероятно, свидетельствует об усилении синтеза ЖК *de novo* и подтверждает роль ДГТС как субстрата для первичной экстрапластидной десатурации.

Содержание наиболее насыщенных молекулярных видов ТАГ, таких как 14:0/16:1/14:0, 16:0/16:0/18:0, 18:1/16:0/18:1, 16:0/18:1/18:0 и др., было максимальным в среднем диапазоне освещенности. При высокой интенсивности света увеличивалось содержание молекулярных видов, представляющих собой комбинации из НЖК, МНЖК и ПНЖК (например, 14:0/18:1/20:5, 18:1/14:0/18:2, 18:4/16:0/20:5 и др.), а также некоторые виды с НЖК и МНЖК, такие как 14:0/18:1/16:0 и 16:1/16:0/16:1. В условиях низкой освещенности увеличивалось содержание высоконасыщенных видов ТАГ с С18- и С20-ПНЖК во всех положениях, таких как 18:3/18:4/20:5, 18:4/18:4/20:5, 20:4/18:4/20:5 и др. Аналогично результатам температурного эксперимента, описанные тенденции, скорее всего, отражают общую направленность синтеза ЖК.

3.4 Сезонная динамика липидного состава бурой макрофитной водоросли *U. pinnatifida*

Для определения сезонной динамики липидного состава образцы *U. pinnatifida* собирали в течение вегетационного периода в заливе Петра Великого, Японское море. Анализировали состав классов и молекулярных видов липидов в нижних (Н) и верхних (В) участках листовой пластины водорослей.

Популяция *U. pinnatifida* в заливе Петра Великого Японского моря представлена

особями, находящимися на разных стадиях жизненного цикла: осенью, зимой и в начале весны – ювенильными особями, в конце мая-начале июня – ювенильными и взрослыми, а в июне – взрослыми спороносящими растениями. Состав и содержание липидов водорослей существенно меняется, что обусловлено как стадией онтогенеза, так и различными факторами среды, в том числе температурным и световым режимами, концентрацией кислорода и питательных веществ и др. Проведенное нами исследование показало значительные колебания содержания отдельных классов липидов (рис. 7). Так, содержание ТАГ в нижних частях листовой пластины снижалось от ноября к январю (в верхней части оставалось в это время постоянным), затем в обеих частях резко возрастало в феврале, и снижалось до минимальных значений к июню. Снижение содержания ТАГ в нижней части к январю можно объяснить их использованием для поддержания интеркалярного роста в условиях недостатка света. В феврале, вследствие удлинения фотопериода, происходит усиление фотосинтеза, но недостаток кислорода, вызванный наличием ледового покрова, не позволяет полностью использовать продукты фотосинтеза для роста, что и приводит к накоплению ТАГ. После схода льда в марте, интенсивность метаболизма возрастает и уровень ТАГ начинает снижаться. Было отмечено увеличение содержания МГДГ в декабре и июне в верхних участках листовой пластины водорослей. Содержание ДГДГ в нижней части листовой пластины в декабре было максимальным (18,7%), а в ноябре и июне – минимальным (9,9 и 8,5%, соответственно). В верхней части листовой пластины, напротив, доля ДГДГ в декабре была минимальной (7,2%), а максимальной – в апреле (23,0%). Уровень СХДГ снижался от ноября к декабрю и затем плавно увеличивался к лету. Максимальное содержание ФГ в нижних частях листовой пластины водорослей наблюдалось в декабре (19,1%), а в верхней – в январе (19,4%). Исследование, проведенное на нитчатых бурых водорослях рода *Streblonema*, показало, что с увеличением температуры и интенсивности света возрастает относительное содержание СХДГ, а МГДГ и ФГ – снижается. МГДГ является сильно ненасыщенным небислойным липидом и ассоциирован с белками фотосистемы (Jordan et al., 2001; Loll et al., 2005), а СХДГ – насыщенным, и в меньшей степени связан с фотосинтетическим аппаратом. Таким образом, в декабре, в условиях наименьшей освещенности (вследствие короткого дня и начала ледостава) содержание СХДГ наименьшее, а МГДГ – наибольшее, что имеет функциональную значимость для поддержания бислойной структуры тилакоидных мембран с высоким уровнем фотосинтетических белков при низкой температуре. В нижней части листовой пластины водорослей уровень ФЭ увеличивался с ноября по апрель (с 8,5 до 15,3%), затем снижался в июне до 9,1%. Содержание ФХ и ФГЭГ в нижней части пластины было минимальным в декабре. В верхних участках листовой пластины водорослей динамика ФЭ, ФХ и ФГЭГ была малозаметна. Содержание минорных липидов ГКДГ, ЦФИ, ДГТА и ДГТС не зависело от месяца сбора образцов.

В образцах *U. pinnatifida*, собранных в разные месяцы, значительные различия наблюдались в составе молекулярных видов как глико-, так и фосфоглицеролипидов. При этом, в разных частях листовой пластины водорослей изменения в составе одного и того же класса липидов не всегда были одинаковы. Так, в нижней части листовой пластины водорослей зимой и весной увеличивалось содержание молекулярного вида МГДГ 18:4/18:4, а в верхней части – 20:5/18:4 (рис. 8). Содержание молекулярного вида МГДГ 18:3/18:4 было выше осенью и летом, по сравнению с зимой и весной, во всех частях листовой пластины. Суммарное содержание молекулярных видов МГДГ ПНЖК/ПНЖК во всех частях листовой пластины водорослей летом было выше, чем осенью. Это может быть связано с более развитой хлоропластной структурой у взрослых особей, усилением фотосинтетической активности водорослей, связанной с относительно высоким уровнем солнечной радиации летом, а также с функцией МГДГ в виолаксантиновом цикле (Garab et al., 2016).

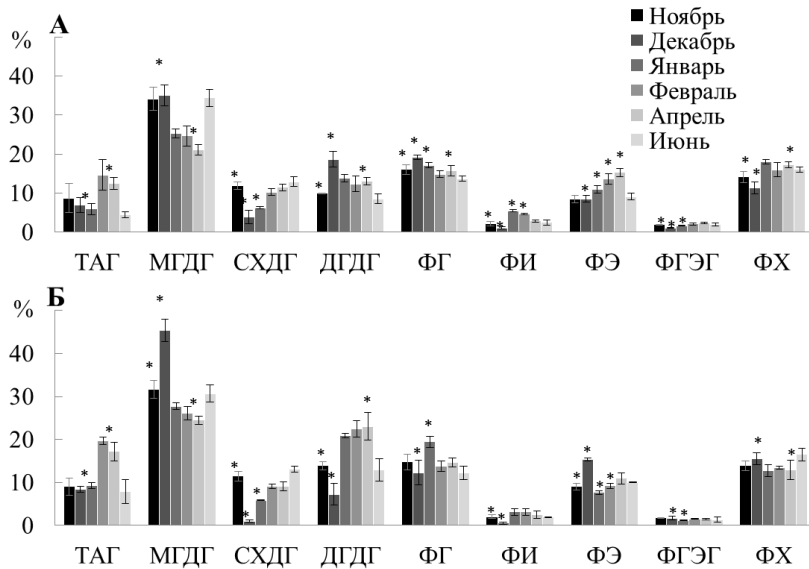


Рис. 7 – Содержание ТАГ (% от суммы всех липидов) и основных классов ПЛ (% от суммы всех ПЛ) в нижних (А) и верхних (Б) частях листовой пластины *U. pinnatifida*, собранных в разные месяцы. Звездочкой отмечены достоверные отличия от последующей точки данных (HSD-test, $p < 0,05$)

содержащих высоконенасыщенные $\omega 3$ ЖК (18:4 и 20:5) при низкой температуре среды зимой и менее ненасыщенных форм этих липидов осенью и летом необходимо для поддержания жидкокристаллического состояния пластидных мембран, и, соответственно, активности фотосинтеза на оптимальном уровне (Williams, 2006). При низкой температуре среды высокая степень ненасыщенности пластидных липидов также важна для процесса репарации ФС II (Moon et al., 1995). Увеличение содержания высоко ненасыщенных молекулярных видов МГДГ также может быть связано со сниженным уровнем освещенности из-за короткой продолжительности светового дня зимой.

В составе СХДГ изменения были наименее заметны, по сравнению с другими пластидными липидами. Зимой увеличивалось содержание СХДГ с ПНЖК, тогда как осенью и летом – с НЖК (например, 14:0/16:0, 16:0/16:0). Относительное содержание молекулярного вида ФГ 18:3/16:1 $\Delta 3t$ в июне было минимальным, тогда как уровень его предшественника 18:3/16:0 был максимальным (рис. 8). Низкий уровень 18:3/16:1 $\Delta 3t$ ФГ в июне, скорее всего, связан с оптимальными условиями для фотосинтеза в этот период. В составе ФГ был обнаружен молекулярный вид 18:3/16:0 $\Delta 3$ -ОН, содержание которого также увеличивалось в зимне-весенний период во всех участках листовой пластины. Скорее всего, ЖК 16:0 $\Delta 3$ -ОН образуется при окислении 16:1 $\Delta 3t$ и имеет эндогенное, а не бактериальное происхождение. В пользу этого говорит то, что другие бактериальные ЖК ($\Delta 2$ -ОН, $\Delta 3$ -ОН, разветвленные) не были обнаружены в сопоставимом количестве. Кроме того, в следовых количествах был обнаружен молекулярный вид ФГ 18:3/16:1 $\Delta 3$ -ОН – предположительный продукт неполного окисления. Можно предположить, что на столь интенсивное гидроксирование ЖК 16:1 $\Delta 3t$ влияет либо положение двойной связи, максимально приближенное к гидрофильному участку мембраны, либо связь 18:3/16:1 $\Delta 3t$ ФГ с ССК II, либо оба этих фактора. Содержание 16:0/18:1 ФГ увеличивалось осенью и летом, тогда как уровень 16:0/18:2 увеличивался зимой и весной. Увеличение доли ФГ с ПНЖК 18:2 и 18:3 в зимние месяцы обусловлено тем, что ненасыщенный ФГ необходим для поддержания скорости репарации ФС II при низкотемпературном фотоингибировании (Zhu et al., 2008).

Сезонная динамика содержания молекулярных видов ФХ, ФЭ и ФГЭГ была сходной во всех частях листовой пластины. Доля молекулярных видов ФЭ, содержащих ЖК 20:4, увеличивалась осенью и летом во всех частях листовой пластины, тогда как уровень молекулярных видов с ЖК 20:5 был максимальным зимой (рис. 9). Содержание 20:4/20:5 ФЭ значительно снижалось только летом. Сходная, но более сложная тенденция наблюдалась и в другом главном компоненте экстрапластидных мембран – ФХ (рис. 9). Так,

Содержание молекулярного вида ДГДГ 20:4/18:4 увеличивалась осенью и летом, а 18:4/18:4 и 16:0/18:4 – зимой (рис. 8). Увеличение доли гликолипидов,

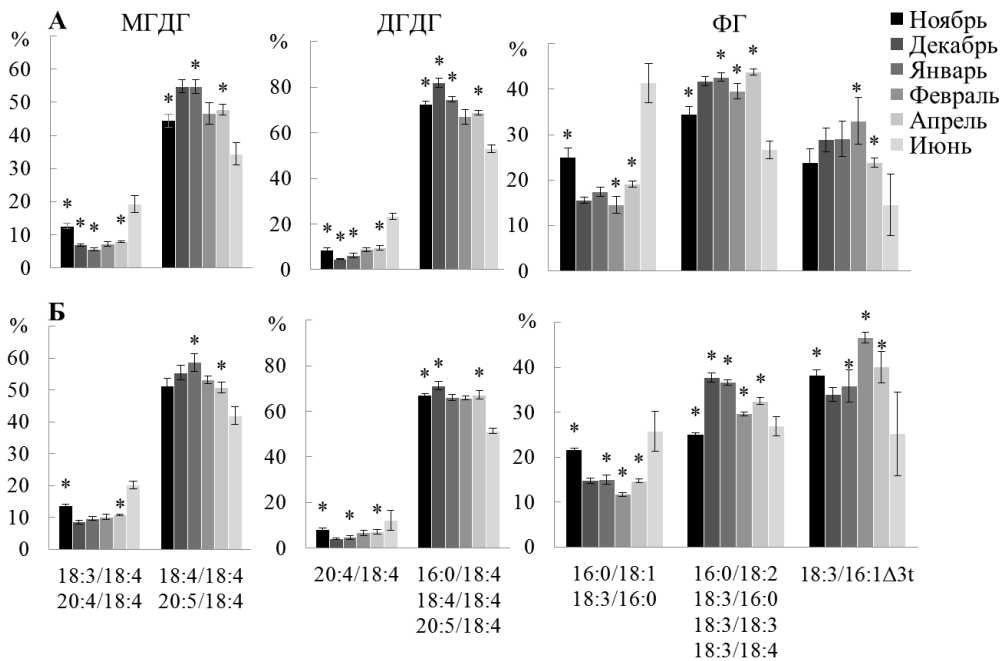


Рис. 8 – Содержание молекулярных видов MGDG, DGDG и FG (% от суммы всех молекулярных видов класса) в нижних (А) и верхних (Б) частях листовой пластинки *U. pinnatifida*, собранных в разные месяцы. Звездочкой отмечены достоверные отличия от последующей точки данных (HSD-test, $p < 0,05$)

содержание молекулярных видов 14:0/18:2, 14:0/20:4 16:0/20:3, 20:4/18:2 и 20:4/20:4 увеличивалось осенью и летом, а 20:4/18:3, 16:0/20:5 и 20:5/20:5 – зимой. Содержание молекулярных видов 16:0/18:3 и 20:4/20:3 увеличивалось осенью и летом только в нижней части листовой пластинки. Доля молекулярных видов ФГЭГ 20:5/20:4 и 20:5/20:5 увеличивалась зимой, тогда как уровень 20:4/20:4 был максимальным осенью и летом во всех частях листовой пластинки (рис. 9). Таким образом, молекулярные виды ФЭ, ФХ и ФГЭГ с $\omega 3$ ПНЖК играют ключевую роль в сезонной акклиматизации. В эксперименте *in vitro*, проведенном на эндофитах, подобное изменение состава молекулярных видов экстрапластидных липидов наблюдалось при температурной акклимации. Очевидно, что среди множества изменяющихся в течение сезона факторов среды, изменения температуры являются определяющими в перестройке состава гидрофобных частей полярных экстрапластидных липидов.

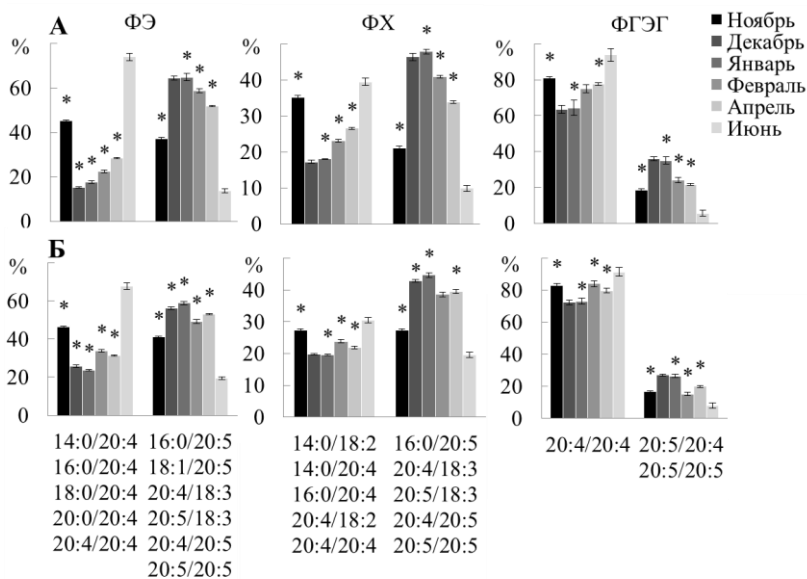


Рис. 9 – Содержание молекулярных видов ФЭ, ФХ и ФГЭГ (% от суммы всех молекулярных видов класса) в нижних (А) и верхних (Б) частях листовой пластинки *U. pinnatifida*, собранных в разные месяцы. Звездочкой отмечены достоверные отличия от последующей точки данных (HSD-test, $p < 0,05$)

Молекулярный состав ФИ практически не изменялся в разные месяцы. ФИ – консервативный липид, структурная роль (и, соответственно, регуляция физико-химических свойств мембран путем изменения состава ЖК) которого не является основной.

Зимой во всех частях листовой пластинки водорослей наблюдалась накопление наиболее ненасыщенных молекулярных видов ТАГ, содержащих преимущественно С18-

ПНЖК и ЖК 20:5 (18:3/18:2/20:5, 18:4/18:3/20:5, 20:4/18:4/20:5, 20:5/18:2/20:5, 20:5/18:4/20:5 и др.). Весной увеличивалось содержание молекулярных видов с НЖК, МНЖК и ЖК 18:2, таких как 16:0/18:2/16:0, 18:1/16:0/18:2, 18:2/16:0/18:2 и др., содержание которых затем снижалось к лету. Осенью и летом увеличивалась доля молекулярных видов ТАГ с НЖК и МНЖК (18:1/16:0/18:1, 14:0/18:1/16:0, 16:0/18:1/16:0, 16:0/18:1/18:0 и др.) Тенденция изменения содержания различных молекулярных видов ТАГ коррелировала с изменением содержания молекулярных видов полярных липидов, содержащих аналогичные ЖК. Анализ позиционного распределения ЖК в липидах образцов *U. pinnatifida*, собранных в разное время года, подтвердил незначительную степень включения пути образования ТАГ напрямую из других полярных липидов. Таким образом, сезонные изменения состава молекулярных видов ТАГ отображали общую направленность синтеза ЖК, аналогично ТАГ эндофитов.

3.5 Влияния инфицирования бурой эндофитной водорослью *L. aecidioides* на липидный состав *U. pinnatifida*

Для анализа использовались нижние (Н) и верхние (В) участки листовой пластины неинфицированных образцов *U. pinnatifida*, и нижние (Ни), верхние интактные (Ви) и верхние участки ткани с визуальным проявлением эндофита (Вэ) инфицированных образцов *U. pinnatifida*, собранных в ноябре (ювенильные особи) и июне (взрослые особи).

На содержание большинства полярных липидов *U. pinnatifida* инфицирование не оказывало влияния. Пониженное содержание ЦФИ наблюдалось в верхней части пластины ювенильных инфицированных водорослей, причем как в ткани, имеющей явные признаки наличия эндофита (0,4%), так и в прилегающей (0,4%), по сравнению с незараженными особями (0,7%). Пониженный уровень ЦФИ в инфицированных образцах можно объяснить вытеснением ЦФИ-содержащих организмов разрастающимися нитями *L. aecidioides*. Содержание ТАГ варьировалось от 4,5 до 12,5% в разных частях ювенильных и взрослых образцов. У взрослых особей в инфицированной области содержание ТАГ было выше, по сравнению с прилегающей интактной тканью, что может быть обусловлено более высокой долей ТАГ в самом эндофите или с наличием других эндофитов, содержащих высокую долю ТАГ, в поврежденной ткани макрофита-хозяина.

В результате анализа ЖК было выявлено сходное влияние инфицирования эндофитом на содержание ЖК как в ювенильных, так и во взрослых особях *U. pinnatifida*. В ткани с выраженным наличием эндофита (Вэ) наблюдались значительные изменения в составе жирных кислот как полярных, так и нейтральных липидов, которые выражались в повышенном уровне насыщенных (16:0 и 18:0) и сниженном уровне полиненасыщенных ЖК (18:3 ω 3, 18:4 ω 3, 20:4 ω 6, 20:5 ω 3) (рис. 10). При этом жирные кислоты полярных липидов демонстрировали такие изменения только в той части листовой пластины макрофита-хозяина, где наличие эндофита определялось визуально (Вэ), а в нейтральных липидах этот эффект проявлялся и в остальных частях образцов (Ни и Ви).

Наличие эндофита нарушает целостность наружных покровов, что открывает доступ для вторичных инфекций (del Campo et al., 1998). Накопление молекулярных видов ТАГ, содержащих насыщенные и мононенасыщенные ЖК с 16 и 18 атомами углерода в инфицированных и прилегающих к ним участках листовой пластины, может быть связано с проникновением вторичной инфекции, например, вирусной или грибковой. Ранее было установлено, что при инфицировании одноклеточных морских водорослей вирусом наблюдается усиленный синтез триацилглицеридов с насыщенными ЖК с накоплением их в виде жировых капель (Malitsky et al., 2016). При совместном культивировании микроводорослей с нитчатými грибами также наблюдалось накопление ТАГ, содержащих такие ЖК, как 16:0, 18:0, 18:1 и 18:2 (Bhatnagar et al., 2019).

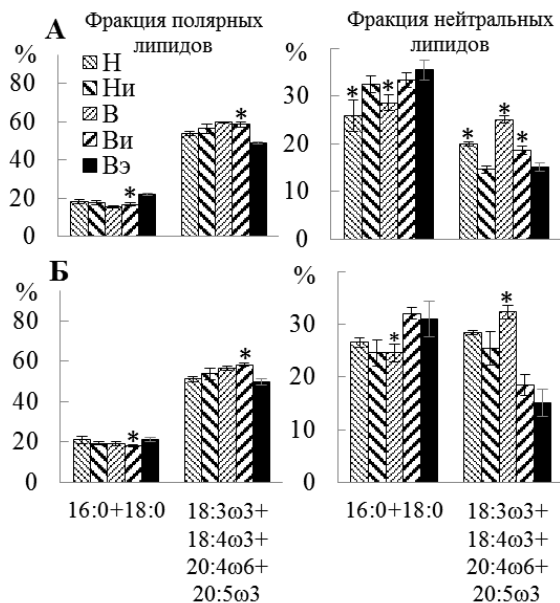


Рис. 10 – Состав жирных кислот полярных и нейтральных липидов (% от общего содержания всех ЖК фракции) нижних (Ни), верхних интактных (Ви) и верхних участков листовой пластины с эндофитом (Вэ) инфицированных образцов *U. pinnatifida*, и нижних (Н) и верхних (В) участков листовой пластины неинфицированных образцов *U. pinnatifida*, собранных в ноябре (А) и июне (Б). Звездочкой отмечены достоверные отличия от последующей точки данных (t -test, $p < 0,05$)

На состав молекулярных видов ГЛ инфицирование не оказывало значительного влияния. В инфицированных тканях наблюдалось увеличение относительного содержания молекулярных видов ФЛ, содержащих ПНЖК в обоих положениях (рис. 11), что может быть связано с механическим воздействием эндофита на клетки *U. pinnatifida*. Было показано, что разрастающиеся нити *L. aecidioides* внутри ткани макрофита-хозяина вызывают латеральное сжатие клеток (Gauna et al., 2009). Подобно высокому гидростатическому давлению, это может вызывать ограничение подвижности липидных молекул (Kato, Hayashi, 1999). Возможно, увеличение содержания молекулярных видов ПНЖК/ПНЖК структурных липидов с предельно ненасыщенными для них ЖК в инфицированных участках компенсирует этот эффект.

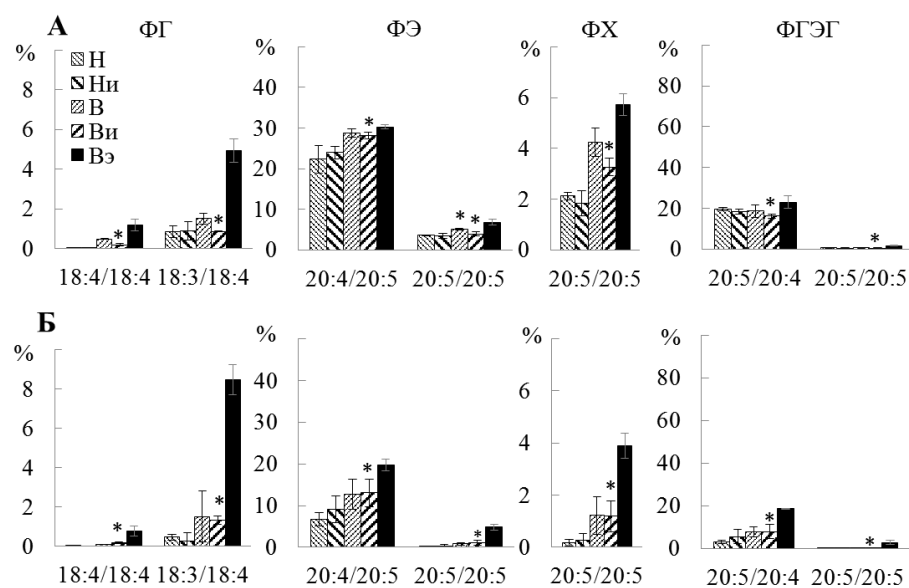


Рис. 11 – Содержание молекулярных видов ФГ, ФЭ, ФХ и ФГЭГ (% от суммы всех молекулярных видов класса) в нижних (Ни), верхних интактных (Ви) и верхних участках листовой пластины с эндофитом (Вэ) инфицированных образцов *U. pinnatifida*, и в нижних (Н) и верхних (В) участках листовой пластины неинфицированных образцов *U. pinnatifida*, собранных в ноябре (А) и июне (Б). Звездочкой отмечены достоверные отличия от последующей точки данных (t -test, $p < 0,05$)

ВЫВОДЫ

1. Анализ молекулярных видов липидов бурых водорослей с определением позиционного положения ацильных групп показал, что гликоглицеролипиды, кроме сульфоиновозилдиацилглицерина, и фосфоглицеролипиды, кроме фосфатидилглицерина, образуются из диацилглицериновых молекул, синтезированных преимущественно в эндоплазматическом ретикулуме. До 55% фосфатидилглицерина и более 75% сульфоиновозилдиацилглицерина синтезируются из пластид-производных диацилглицеринов. Установлены три пути образования триацилглицеридов, включая синтез *de novo* в пластидах, *de novo* в эндоплазматическом ретикулуме, а также синтез из диацилглицериновых фрагментов, содержащих жирные кислоты, прошедшие десатурацию и элонгацию в составе фосфолипидов.
2. Адаптация к низкой температуре у бурых водорослей сопровождается повышением соотношения фосфатидилглицерин/сульфоиновозилдиацилглицерин, и увеличением содержания молекулярных видов полярных липидов с предельно ненасыщенными для конкретного класса жирными кислотами $\omega 3$ ряда.
3. Повышение интенсивности освещения сопровождается увеличением содержания дигалактозилдиацилглицерина, сульфоиновозилдиацилглицерина и экстрапластидных липидов с жирной кислотой 20:5, и снижением – моногалактозилдиацилглицерина и фосфатидилглицерина. Уровень молекулярного вида фосфатидилглицерина 18:3/16:1 $\Delta 3t$ увеличивается как при низкой, так и при высокой интенсивности света.
4. Инфицирование бурым нитчатым эндофитом *Laminariocolax aecidioides* приводит к повышению доли структурных фосфолипидов, содержащих полиненасыщенные жирные кислоты в пораженных участках листовой пластины *Undaria pinnatifida*, а также к увеличению содержания насыщенных жирных кислот в триацилглицеридах как в инфицированных, так и прилегающих участках листовой пластины, что является признаком наличия вторичной инфекции.
5. При низкой освещенности в водорослях рода *Streblonema* увеличивается уровень молекулярного вида фосфатидилэаноламина 18:1/16:1, что указывает на наличие неизвестного механизма синтеза этого липида из диацилглицерина пластидного происхождения.

Благодарности. Автор выражает искреннюю признательность своему научному руководителю к.б.н. Веланскому Петру Владимировичу за всестороннюю поддержку и помощь в проведении исследований и подготовке диссертационной работы. Автор благодарит сотрудницу ННЦМБ ДВО РАН к.б.н. Скрипцову Анну Владимировну за помощь в определении видовой принадлежности водорослей и предоставленный материал для исследований.

Публикации по теме диссертации

Статьи в рецензируемых журналах

1. **Чадова О.А.**, Веланский П.В. Воздействие эндофита *Laminariocolax aecidioides* (Rosenvinge) A.F. Peters, 1998 (Phaeophyceae: Ectocarpales) на липидный состав бурой водоросли *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar, 1873 (Phaeophyceae: Laminariales) // Биология моря. 2022. Т. 48, № 5. С. 338–345.
2. **Chadova O.**, Skriptsova A., Velansky P. Effect of temperature and light intensity on the polar lipidome of endophytic brown algae *Streblonema corymbiferum* and *Streblonema* sp. *in vitro* // Marine Drugs. 2022. V. 20, No. 7. Article no. 428.
3. **Chadova K.**, Velansky P. Lipidome of the brown macroalga *Undaria pinnatifida*: Influence of season and endophytic infection // Marine Drugs. 2023. V. 21, No. 9. Article no. 466.

Материалы конференций

1. **Чадова О.А.**, Веланский П.В. Влияние эндофита *Laminariocolax aecidioides* (Ectocarpales, Phaeophyceae) на состав полярных липидов бурой водоросли *Undaria pinnatifida* (Laminariales, Phaeophyceae) // Ежегодная научная конференция Федерального государственного бюджетного учреждения науки “Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского” Дальневосточного отделения Российской академии наук. Владивосток: Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, 2019. С. 147–150.
2. **Chadova O.A.**, Velansky P.V. Fatty acid composition of endophytic microalgae *Laminariocolax aecidioides*, *Streblonema corymbiferum* и *Streblonema* sp. (Ectocarpales, Phaeophyceae) // Themed collection of papers from International scientific conference «Science.Research.Practice.» St. Petersburg: HNRI «National development», 2021. P. 16–18.
3. **Chadova O.A.**, Velansky P.V. Polar lipidomic profile of endophytic microalgae *Laminariocolax aecidioides*, *Streblonema corymbiferum* and *Streblonema* sp. (Ectocarpales, Phaeophyceae) // Abstracts of the international conference marine biology in the 21st century: achievements and development outlook (in commemoration of the 100th anniversary of the Birth of academician Alexey V. Zhirmunsky). Vladivostok: Far Eastern Federal University, 2021. P. 43–44.
4. **Чадова О.А.**, Веланский П.В. Влияние температуры на полярный липидом *Streblonema corymbiferum* (Ectocarpales, Phaeophyceae) // Научный форум: Медицина, биология и химия: сб. ст. по материалам XLVI междунар. науч.-практ. конф. Москва: МЦНО, 2021. С. 4–8.
5. **Чадова О.А.** Влияние интенсивности света на полярный липидом бурой эндофитной водоросли *Streblonema corymbiferum* [Электронный ресурс] // Материалы Международного молодежного научного форума «ЛОМОНОСОВ-2022». Москва: МАКС Пресс, 2022. С. 1–2. URL: https://lomonosov-msu.ru/archive/Lomonosov_2022/data/25893/140270_uid681304_report.pdf
6. **Чадова О.А.** Воздействие эндофита *Laminariocolax aecidioides* на липидом бурой водоросли *Undaria pinnatifida* [Электронный ресурс] // Материалы Международного молодежного научного форума «ЛОМОНОСОВ-2023». Москва: МАКС Пресс, 2023. С. 1. URL: https://lomonosov-msu.ru/archive/Lomonosov_2023/data/28358/155966_uid681304_report.pdf
7. **Чадова О.А.**, Веланский П.В. Сезонная динамика липидома бурой водоросли *Undaria pinnatifida* (Laminariales) // Сборник тезисов 26-ой Пушкинской школы-конференции молодых ученых с международным участием «БИОЛОГИЯ – НАУКА XXI ВЕКА». Пушкино: ФИЦ ПНЦБИ РАН, 2023. С. 305.