



Морской биологический журнал Marine Biological Journal 2021, том 6, № 4, с. 3–18 https://doi.org/10.21072/mbj.2021.06.4.01

## НАУЧНЫЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 582.26/.27-113:547.979.8-3

# РАБОЧАЯ КОЛЛЕКЦИЯ ЖИВЫХ КУЛЬТУР КАРОТИНОГЕННЫХ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ ИНСТИТУТА БИОЛОГИИ ЮЖНЫХ МОРЕЙ ИМЕНИ А. О. КОВАЛЕВСКОГО

© 2021 г. **Н. В. Данцюк, Э. С. Челебиева, Г. С. Минюк** 

ФГБУН ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН», Севастополь, Российская Федерация E-mail: nterent@mail.ru

Поступила в редакцию 15.10.2020; после доработки 02.02.2021; принята к публикации 29.09.2021; опубликована онлайн 30.11.2021.

В статье приведены сведения о специализированной рабочей коллекции каротиногенных микроводорослей отдела физиологии животных и биохимии Федерального исследовательского центра «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН» (ФИЦ ИнБЮМ), созданной в рамках научной и прикладной тематик института для исследования механизмов стресс-толерантности у эврибионтных и экстремофильных одноклеточных фототрофов, а также для выявления коммерчески значимых источников высокоценных в медицинском и пищевом отношении кетокаротиноидов группы астаксантина. Коллекция насчитывает 44 штамма микроводорослей различной таксономической и экологической специализации с выраженной способностью к гиперсинтезу вторичных каротиноидов и липидов при экстремальных внешних воздействиях (высыхание, острое голодание, высокая освещённость, температура и солёность, действие токсикантов и др.). Основными способами пополнения фонда являются направленный обмен каротиногенными видами с ведущими российскими и зарубежными коллекциями микроводорослей и собственные полевые сборы в причерноморских зонах Крыма и Кавказа. Большинство штаммов в коллекции — представители двух порядков класса Chlorophyceae [Chlamydomonadales (25 штаммов) и Sphaeropleales (15 штаммов)], так как именно в этих порядках явление вторичного каротиногенеза распространено наиболее широко. Среди них преобладают обитатели эфемерных пресноводных водоёмов, аэрофильные и почвенные микроводоросли. Все штаммы поддерживаются в состоянии альгологически чистых культур при контролируемых условиях на агаризованных минеральных средах. Описания вариететов коллекции включают следующие сведения: а) современный таксономический статус вида, верифицированный с учётом обновлённых данных депонирующих коллекций и альгологических баз AlgaeBase и NCBI Taxonomy Browser; б) базионим и известные синонимы вида; в) время и источник поступления штамма в коллекцию; г) фамилию автора, географическое место и биотоп, из которого штамм был изолирован; д) номер штамма в NCBI (если есть); е) питательную среду, на которой штамм поддерживается в коллекции ФИЦ ИнБЮМ. Проанализировано значение коллекции для проведения морфобиологических и физиолого-биохимических исследований особенностей роста, вторичного каротиногенеза и биотехнологического потенциала зелёных микроводорослей.

**Ключевые слова:** каротиногенные микроводоросли, коллекционное хранение, Chlorophyta, каротиноиды, астаксантин

Под понятием «каротиногенные микроводоросли» подразумевают разнородную по таксономическому и экологическому статусу группу эукариотических водорослей, которым свойственна характерная стрессовая реакция — массивное накопление специфических вторичных (экстрапластидных) каротиноидов, структурно и функционально не связанных с фотосинтезом и выполняющих защитную функцию. По химической структуре такие каротиноиды у большинства микроводорослей являются продуктами ферментативного окисления β-каротина в астаксантин (3,3'-дигидрокси-β,β-каротин-4,4'-дион), протекающего на поверхности цитоплазматических липидных глобул (олеосом). Основное функциональное значение такой стресс-реакции, получившей название «вторичный каротиногенез», заключается в снижении интенсивности окислительного стресса, который неизбежно развивается при острых негативных воздействиях, до уровня, адекватного возможности образования вегетативными клетками стадий покоя, обеспечивающих сохранение их жизнеспособности в экстремальных условиях в течение длительного времени (Shah et al., 2016; Solovchenko, 2015).

Выявление у астаксантина и его ближайших предшественников исключительно высокой антиоксидантной и регуляторной активности (Capelli et al., 2019; Han et al., 2013) вызвало в конце 1990-х гг. повышенный интерес к проблеме вторичного каротиногенеза у микроводорослей и бум исследований особенностей роста и метаболизма у наиболее яркого продуцента астаксантина — планктонной зелёной микроводоросли *Haematococcus pluvialis* Flotow (Chlorophyceae, Chlamydomonadales), которая стала классическим модельным объектом в этом направлении и первым видом, введённым в промышленную культуру в качестве источника водорослевого астаксантина. Основные результаты многочисленных исследований различных аспектов жизнедеятельности и массового культивирования *H. pluvialis*, выполненных за последние 20 лет в разных странах, обобщены в ряде широко известных обзоров, которые служат ориентиром в непрерывно растущем потоке информации по данной проблеме (Lemoine & Schoefs, 2010; Li et al., 2011; Shah et al., 2016; Solovchenko, 2015; Zhang et al., 2020).

Выявленные на примере *H. pluvialis* закономерности вторичного каротиногенеза многие авторы экстраполируют на все группы каротиногенных микроводорослей без учёта их происхождения и особенностей биологии, что может быть справедливо лишь отчасти из-за недостаточности надёжных фактических данных по другим видам. Перечни каротиногенных микроводорослей, встречающиеся в обзорных публикациях, содержат, как правило, не более 10–15 наименований единичных представителей 5–7 родов класса Chlorophyceae (*Chlorella*, *Coelastrella*, *Scenedesmus*, *Ankistrodesmus*, *Chlorococcum* и др.), а экспериментальные данные, характеризующие специфику вторичного каротиногенеза у таких видов и их потенциал в качестве источников астаксантина, пока немногочисленны и эпизодичны (литературные ссылки на эти работы можно найти в перечисленных выше обзорах).

На самом деле явление вторичного каротиногенеза у микроводорослей в природе распространено значительно шире и характерно для представителей двух отделов (Chlorophyta и Euglenophyta) и пяти классов водорослей (Chlorophyceae, Trebouxiophyceae, Eustigmatophyceae, Ulvophyceae и Euglenophyceae). В подавляющем большинстве случаев это аэрофильные и почвенные виды, фикобионты эпилитных лишайников, планктонные обитатели пересыхающих эвтрофных водоёмов, криофильные обитатели снега и льда и др., многократно переживающие в ходе годовых циклов такие остроэкстремальные состояния, как голодание, обезвоживание, высокая УФ-облучённость и температура и др. (Минюк, 2020). Ростовые характеристики в культуре, а также особенности физиолого-биохимических и молекулярно-генетических механизмов индукции и регуляции биосинтеза астаксантина у большинства таких видов изучены пока крайне слабо, хотя среди них, судя по высокой экологической пластичности наземных видов, могут оказаться высокопродуктивные и неприхотливые в массовом производстве источники астаксантина и близких ему по структуре и биологической активности кетокаротиноидов.

Одним из пионеров исследований физиологии и метаболизма продуцентов астаксантина на постсоветском пространстве является Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского (ФИЦ ИнБЮМ). Базовым условием и инструментом развития этого направления было создание собственного экспериментального фонда живых культур (рабочей коллекции) каротиногенных микроводорослей. Основные принципы его комплектации состоят в следующем: водоросли должны представлять наиболее массовые таксоны и экологические группы продуцентов астаксантина, иметь надёжно установленный таксономический статус и храниться в идентичных, строго контролируемых условиях. Начало формирования коллекции относится к 2002 г., когда из Ботанического института имени В. Л. Комарова РАН от В. М. Андреевой был получен и введён в лабораторную культуру первый штамм *Haematococcus pluvialis* Flotow (LABIK 927-1). В настоящее время коллекция насчитывает 44 штамма каротиногенных Chlorophyceae, является структурной частью общей коллекции живых культур микроводорослей ФИЦ ИнБЮМ (акроним — IBSS; регистрационный номер в World Data Centre for Microorganisms — 1201) (World Data Centre for Microorganisms, 2021) и имеет внутренний идентификатор IBSSca. С 2017 г. коллекция IBSS включена в национальный банк-депозитарий живых систем «Ноев ковчег» (проект МГУ имени М. В. Ломоносова по созданию многофункционального сетевого хранилища биологического материала). ID коллекции в базе «Ноев ковчег» — IBSS-ALGAE (Микроорганизмы и грибы, 2020).

Основными способами пополнения фонда IBSSса являются направленный обмен каротиногенными видами с ведущими российскими и зарубежными коллекциями (их перечень приведён в разделе «Материал и методы») и собственные полевые сборы в причерноморских районах Крыма и Кавказа (Данцюк и др., 2015; Chelebieva et al., 2018). Большинство штаммов принадлежит к двум порядкам класса Chlorophyceae [Chlamydomonadales (25 штаммов) и Sphaeropleales (15 штаммов)], в которых явление вторичного каротиногенеза представлено наиболее широко. Среди них преобладают обитатели эфемерных пресноводных водоёмов, аэрофильные и почвенные виды. Кроме того, в коллекции поддерживаются 4 штамма галофильной микроводоросли *Dunaliella salina* (Dunal) Теоdoresco, 1905, изолированных из крымских гиперсолёных озёр сотрудниками ФИЦ ИнБЮМ. Этот вид отличается особой формой вторичного каротиногенеза: конечным продуктом является β-каротин (Ben-Amotz & Avron, 1990).

Особенностями некоторых штаммов, полученных нами из российских и украинских коллекций, являются их европейское и американское происхождение, многолетний срок коллекционного хранения (до 100 лет в отдельных случаях) и многоступенчатый путь передачи из депонирующих коллекций в фонды стран СНГ. Отдельные штаммы изолированы в Китае, получены непосредственно из Института гидробиологии Китайской академии наук (АН) и в других российских коллекциях отсутствуют. Часть штаммов изолирована нами из полевых образцов самостоятельно.

Все штаммы имеют электронные паспорта, включающие следующие сведения: а) современный таксономический статус вида, верифицированный с учётом обновлённых данных депонирующих коллекций и альгологических баз AlgaeBase (https://www.algaebase.org/) и NCBI Taxonomy Browser (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/); б) базионим и известные синонимы вида; в) время и источник поступления штамма в коллекцию ФИЦ ИнБЮМ; г) фамилию автора, время, географическое место и биотоп, из которого был изолирован природный образец; д) идентификаторы (ID) нуклеотидных последовательностей в базе NCBI (если есть); е) питательную среду, на которой поддерживается штамм в коллекции ФИЦ ИнБЮМ.

Необходимо также отметить, что у каротиногенных микроводорослей биосинтез астаксантина всегда сопряжён с массивным накоплением нейтральных липидов, пригодных для получения высококачественного биотоплива, поэтому такие виды могут служить источниками сразу двух

весьма востребованных рынком продуктов (Minyuk et al., 2017, 2020; Solovchenko, 2015). Это обстоятельство существенно расширяет границы исследований и практического использования вариететов коллекции IBSSca.

Целью данной работы было распространить информацию об имеющихся в ФИЦ ИнБЮМ пресноводных и наземных штаммах микроводорослей — активных продуцентов астаксантина и липидов среди специалистов соответствующего профиля для расширения научных связей и сотрудничества в области фундаментальных и прикладных проблем альгологии.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Сведения о коллекциях, предоставивших ФИЦ ИнБЮМ штаммы каротиногенных микроводорослей. Акронимы коллекций, их ведомственная принадлежность, регистрационные номера в World Data Centre for Microorganisms (WDCM), ссылки на сайты и каталоги коллекций приведены в табл. 1.

**Таблица 1.** Сведения о коллекциях живых культур, предоставивших штаммы каротиногенных микроводорослей

**Table 1.** Data on the collections of living cultures, that provided strains of carotenogenic microalgae

Акроним коллекции	Название, научная организация, страна	Nº B WDCM	Сайт или каталог коллекции	Количество штаммов, переданных в ФИЦ ИнБЮМ
ACKU	Коллекция культур водорослей Киевского национального университета имени Тараса Шевченко (КНУ), Украина	994	https://biology.univ.kiev.ua/ (Костіков и др., 2009)	14
CALU	Коллекция цианобактерий, водорослей и паразитов водорослей Санкт-Петербургского государственного университета (СПбГУ), Россия	461	https://researchpark.spbu.ru/ collection-ccem-rus/1628- ccem-kollekciya-calu-rus	5
IPPAS	Коллекция микроводорослей и цианобактерий Института физиологии растений имени К. А. Тимирязева РАН (ИФР), Россия	596	http://cellreg.org/catalog/	4
FACHB	Коллекция пресноводных микроводорослей Института гидробиологии Китайской академии наук (The Freshwater Algae Culture Collection at the Institute of Hydrobiology), г. Ухань, Китай	873	http://algae.ihb.ac.cn/ english/Cultrues.aspx	4
UTEX	Коллекция культур водорослей Техасского университета (The Culture Collection of Algae at the University of Texas), г. Остин, США	606	http://www.utex.org	2
PLY	Коллекция культур морской биологической ассоциации (The Marine Biological Association Culture Collection), г. Плимут, Великобритания	128	https://www.mba.ac.uk/ facilities/culture-collection	1

Районы сбора полевых образцов. Собственные штаммы микроводорослей выделяли из полевых образцов, собранных в трёх локальных климатических зонах Причерноморья (зонах влажных субтропиков, морского умеренно-континентального климата и высокогорья Центрального Кавказа), а также в зоне арктического климата (архипелаг Шпицберген). Детальная информация о биотопах и географических местах изолирования штаммов из природной среды приведена в разделе «Систематический список...».

Получение чистых культур и идентификация микроводорослей. Большинство собственных штаммов были изолированы из сухих оранжево-красных или жёлто-бурых налётов на камнях или стенках различных ёмкостей для воды и представляли собой зрелые покоящиеся стадии микроводорослей (апланоспоры или цисты). Это обстоятельство существенно облегчало получение альгологически чистых культур микроводорослей, так как сухие образцы, подвергавшиеся открытому солнечному облучению, практически не содержали сопутствующих видов. Частицу образца помещали в лунку предметного стекла и смачивали каплей дистиллированной воды; затем под микроскопом МБС-10 или бинокуляром XS-6320 (Ningbo Shengheng, Китай) при помощи препаровальной иглы и микропипетки изолировали отдельные клетки в стеклянную пробирку, содержащую 0,5–1,0 мл разведённой в 2–3 раза стерильной питательной среды ВВМ. Пробирку закрывали ватно-марлевой пробкой и оставляли на несколько дней при комнатной температуре и сумеречном свете для прорастания спор и накопления вегетативных клеток. Дальнейшую очистку образца проводили стандартным методом посева штрихом на агаризованные среды (1,5–2,0 %) в чашках Петри (Темралеева и др., 2014; Brand et al., 2013).

Таксономическую идентификацию водорослей осуществляли по морфометрическим и биологическим признакам с использованием определителей (Андреева, 1998; Анисимова и Гололобова, 2006; Дедусенко-Щеголева и др., 1959), а также по результатам молекулярно-генетического анализа фрагментов нуклеотидных последовательностей ядерного гена 18S рРНК и внутреннего транскрибируемого спейсера ITS2. Генетический анализ включал процедуры выделения суммарной ДНК, амплификацию целевых фрагментов, их электрофоретическую детекцию и очистку перед следующим этапом — секвенированием, предварительный анализ и поиск гомологов при помощи алгоритма BLAST в базе данных GenBank (NCBI), построение множественного выравнивания, подбор эволюционной модели и построение филогенетического дерева (Челебієва та Скребовська, 2013; Chelebieva et al., 2018; Minyuk et al., 2017).

**Условия хранения культур микроводорослей.** Альгологически чистые штаммы микроводорослей поддерживаются в коллекции в активно вегетирующем состоянии методом субкультуры на скошенных агаризованных (1,5–2,0 %) питательных средах (Гайсина и др., 2008; Темралеева и др., 2014; Brand et al., 2013; Lourenço, 2020), в зависимости от биологических особенностей вида (Ben-Amotz et al., 1982; Bischoff & Bold, 1963; Fučíková & Lewis, 2012) (табл. 2).

Агаровые косяки (по две повторности на каждый штамм) хранятся при контролируемых условиях в модифицированной холодильной витрине Snaige, оснащённой люминесцентными лампами Feron DL 20W T4 6400K (Россия) и двумя дополнительными терморегуляторами (тип F/2000, производитель FTWOF PRODIGY), при температуре +12...+14 °C и непрерывном освещении в 2000 лк.

Пересевы культур выполняются по графику через каждые 2–3 месяца (в зависимости от скорости роста водорослей) с соблюдением всех необходимых асептических приёмов (Темралеева и др., 2014; Brand et al., 2013) и включают два этапа: 1) перенесение покрасневших пальмеллоидных клеток с агаровых косяков в соответствующие жидкие питательные среды для получения активно делящихся вегетативных клеток; 2) посев молодых вегетативных клеток на свежие агаровые косяки. Наилучший рост водорослей на твёрдых средах отмечен при использовании агар-агара для микробиологических целей (изготовитель Laboratorios Conda, Испания).

Текущий контроль за функциональным состоянием жидких культур на стадии пересева (альгологической чистотой, скоростью деления клеток, их формой и размерами, содержанием хлорофилла, долей жизнеспособных клеток в культуре и др.) осуществляется теми же методами, что и в наших экспериментальных исследованиях с использованием камеры Горяева («МиниМед», Россия), светового микроскопа Leica DM1000 (Германия), цифровой камеры Leica Microsystem AG (Германия), компьютерной программы ImageJ и проточного цитофлуориметра Cytomics FC 500 Beckman Coulter (США) (Минюк и др., 2016; Челебиева и др., 2013; Чубчикова и др., 2011; Chelebieva et al., 2018; Minyuk et al., 2014, 2017).

**Таблица 2.** Состав питательных сред для коллекционного хранения каротиногенных микроводорослей

Table 2. Nutrient media composition for carotenogenic microalgae collection storage

	Питательная среда					
Реагент	OHM	BBM	Ben-Amotz			
	(Fábregas et al., 2000)	(Bischoff & Bold, 1963)	(Ben-Amotz & Avron, 1990)			
KNO <sub>3</sub>	410 мг·мл <sup>-3</sup>		505 мг·мл <sup>-3</sup>			
NaNO <sub>3</sub>		250 мг⋅мл <sup>-3</sup>				
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	110,9 мг⋅мл <sup>-3</sup>	25 мг⋅мл <sup>-3</sup>				
CaCl <sub>2</sub>			22,2 мг⋅мл <sup>-3</sup>			
FeC <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub> ·5H <sub>2</sub> O	2,62 мг⋅мл <sup>-3</sup>					
FeCl <sub>3</sub>			0,325 мг⋅мл <sup>-3</sup>			
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O		4,98 мг⋅мл <sup>-3</sup>				
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	246,5 мг⋅мл <sup>-3</sup>	75 мг·мл <sup>-3</sup>				
MgSO <sub>4</sub>			600 мг·мл <sup>-3</sup>			
Na <sub>2</sub> EDTA			1,86 мг⋅мл <sup>-3</sup>			
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	30 мг⋅мл <sup>-3</sup>					
NaHCO <sub>3</sub>			4,2 мг·мл <sup>-3</sup>			
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>		75 мг·мл <sup>-3</sup>				
$KH_2PO_4$		175 мг·мл <sup>-3</sup>	27,2 мг⋅мл <sup>-3</sup>			
MnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	0,85 мг⋅мл <sup>-3</sup>					
MnCl <sub>2</sub>			0,882 мг⋅мл <sup>-3</sup>			
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O		8,82 мг·мл <sup>-3</sup>				
ZnCl <sub>2</sub>			0,136 мг⋅мл <sup>-3</sup>			
CuCl <sub>2</sub>			0,945 мг⋅мл <sup>-3</sup>			
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0,012 мг·мл <sup>-3</sup>	1,57 мг⋅мл <sup>-3</sup>				
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0,12 мг⋅мл <sup>-3</sup>					
$(NH_4)_6 \cdot Mo_7O_{24}$			1,164 мг⋅мл <sup>-3</sup>			
$MoO_3$		0,71 мг⋅мл <sup>-3</sup>				
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0,011 мг⋅мл <sup>-3</sup>					
CoCl <sub>2</sub>			0,130 мг⋅мл <sup>-3</sup>			
Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O		0,49 мг⋅мл <sup>-3</sup>				
$Cr_2O_3$	0,076 мг⋅мл <sup>-3</sup>					
SeO <sub>2</sub>	0,005 мг·мл <sup>-3</sup>					
$H_3BO_3$		11,42 мг⋅мл <sup>-3</sup>				
КОН		31 мг⋅мл <sup>-3</sup>				
NaCl		25 мг⋅мл <sup>-3</sup>	58,5 мг·мл <sup>-3</sup>			
Биотин	25 мкг⋅мл <sup>-3</sup>					
Витамин В <sub>1</sub>	17,5 мкг·мл <sup>-3</sup>					
Витамин В <sub>12</sub>	15 мкг·мл <sup>-3</sup>					

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Систематический список и описание штаммов рабочей коллекции каротиногенных микроводорослей IBSS.

## Класс Chlorophyceae.

- 1. **Deasonia granata** (Starr) Ettl & Komárek, 1982. **Штамм IBSS-11.** Chlamydomonadales, Actinochloridaceae. Получен в 2006 г. из коллекции СПбГУ как *Chlorococcum granatum* CALU-859 = CCAP-213-1a. Изолировал Е. G. Pringsheim в 1928 г. из почвы в окрестностях г. Праги (Чехия). Базионим: *Chlorococcum humicolum*. Субкультуры: SAG 213-1a; UTEX 116 (как *Neospongiococcum granatum* Deason, 1971). Идентификаторы нуклеотидных последовательностей в GenBank (GenBank IDs): KM020105; MK541716. Среда: BBM + агар.
- 2. **Deasonia granata** (Starr) Ettl & Komárek, 1982. **Штамм IBSS-94.** Chlamydomonadales, Actinochloridaceae. Получен из коллекции КНУ в 2009 г. как штамм АСКИ 566-06. Изолировал Е. G. Pringsheim из почвы в окрестностях г. Праги, предположительно до 1928 г. Гетеротипические синонимы: *Chlorococcum multinucleatum* Starr, 1955; *Neospongiococcum granatum* Deason, 1971. Депонирован в SAG (213-1a). Субкультуры: ССАР 213/1A; UTEX 116 (как *Neospongiococcum granatum* Deason, 1971). GenBank ID: КМ020105. Среда: BBM + агар.
- 3. *Tetracystis* sp. / (*Macrochloris* sp.?). **Штамм IBSS-95.** Chlamydomonadales, Chlorococcaceae/Actinochloridaceae. Получен из коллекции КНУ в 2009 г. как штамм АСКИ 170-02. Изолировал из почвы хвойного леса И. Ю. Костиков в Арденнах, Вильц, около г. Канндорф, массив Гайшт (Люксембург). Среда: BBM + агар.
- 4. *Bracteacoccus giganteus* Bischoff et Bold, 1963. **Штамм IBSS-96.** Sphaeropleales, Bracteacoccaceae. Получен из коллекции КНУ в 2009 г. как штамм АСКИ 461-06. Выделил И. Ю. Костиков (В-145) в 1996 г. из кислого коричневого грунта в Бельгии (Высокие Арденны, экспериментальный полигон Waroneu, еловый лес). Депонировал И. Ю. Костиков. Среда: ВВМ + агар.
- 5. **Bracteacoccus minor** (Chodat) Petrová, 1931. **Штамм IBSS-97.** Sphaeropleales, Bracteacoccaceae. Получен из коллекции КНУ в 2009 г. как штамм АСКU 506-06. Депонирован в SAG (221-1). Изолировал из почвы R. Chodat в 1913 г. Субкультуры: ССАР 221/1; UTEX 66. Базионим: *Botrydiopsis anglica* Fritsch et John, 1942; *Botrydiopsis minor* Schmidle ex Chodat, 1913; *Dictyococcus minor* (Schmidle) Pascher, 1937. GenBank IDs: KF673367; KT199253.1. Среда: BBM + агар.
- 6. *Bracteacoccus* **sp. Штамм IBSS-104.** Sphaeropleales, Bracteacoccaceae. Получен из коллекции КНУ в 2011 г. как штамм АСКИ 65-02. Изолировал И. Ю. Костиков из почвы дубового леса в 1996 г. в Бельгии (Высокие Арденны, экспериментальный полигон Waroneu, пробная точка QL-120, образец B-25). Депонировал И. Ю. Костиков. Среда: BBM + агар.
- 7. Chromochloris zofingiensis (Dönz) Fučíková & L. A. Lewis, 2012. Штамм IBSS-20. Sphaeropleales, Chromochloridaceae. Получен из коллекции СПбГУ в 2006 г. как Chlorella zofingiensis Dönz, 1933, штамм CALU-190. Изолирован из почвы в окрестностях Цофингена (Швейцария). Таксономический статус изменён по результатам молекулярно-генетического анализа (Fučíková & Lewis, 2012). Субкультуры: ССАР-211/14 = CAUP H 1905 = UTEX 32 = SAG 211-14 = ATCC 30412. Гомотипические синонимы: Chlorella zofingiensis Dönz, 1934; Muriella zofingiensis (Dönz) Hindák, 1982; Mychonastes zofingiensis (Dönz) Kalina & Puncochárová, 1987. GenBank IDs: GU827478.1; HQ902940; KR904902; KP645230; HQ902932; HQ902929. Среда: BBM + агар.
- 8. *Chlamydomonas* cf. *debaryana* Goroschankin, 1981. Штамм IBSS-105. Chlamydomonadales, Chlamydomonadaceae. Получен из коллекции КНУ в 2011 г. как штамм ACKU 45-02.

- Изолировал Э. Н. Демченко в Черкасской обл. (с. Пекари, Каневский р-н, Украина) из лужи на грунтовой дороге. Депонировал Э. Н. Демченко. В международных альгологических базах AlgaeBase и NCBI Taxonomy Browser *Chlamydomonas debaryana* Goroschankin, 1891 в настоящее время рассматривается как *Edaphochlamys debaryana* (Goroschankin) Pröschold & Darienko, 2018 (Pröschold et al., 2018). Среда: BBM + агар.
- 9. *Chlamydomonas montana* Romanenko, 1999. **Штамм IBSS-106.** Chlamydomonadales, Chlamydomonadaceae. Получен из коллекции КНУ в 2011 г. как штамм АСКИ 167-03. Изолировал Э. Н. Демченко в 2002 г. из трещин гранитных выходов в региональном ландшафтном парке «Гранитно-степное Побужье», урочище Гард (г. Южноукраинск, Николаевская обл., Украина). Депонировал Э. Н. Демченко. Среда: BBM + агар.
- 10. *Chlamydomonas* sp. Штамм IBSS-88. Chlamydomonadales, Chlamydomonadaceae. Штамм изолировали в 2006 г. И. Н. Чубчикова и Н. В. Данцюк из пресноводного родникового водоёма в окрестностях г. Севастополя (пос. Сахарная Головка). Выделила в чистую культуру и идентифицировала Н. В. Данцюк. Среда: BBM + агар.
- 11. *Ettlia carotinosa* Komárek, 1989. **Штамм IBSS-98.** Chlamydomonadales, Chlamydomonadales incertae sedis. Получен из коллекции КНУ в 2009 г. как штамм АСКИ 573-06. Изолировал F. Mainx, предположительно до 1954 г., из почвы в Чехии. Депонировал в SAG (213-4) Е. G. Pringsheim в 1954 г. Гетеротипические синонимы: *Chlorococcum wimmeri* Rabenhorst; *Neochloris wimmeri* (Hilse) P. A. Archibald & Bold; *Protococcus wimmeri* Hilse. Субкультуры: ССАР 213/4; UTEX 113. GenBank IDs: KR181935; KR181934; GU292342. Среда: BBM + агар.
- 12. Neospongiococcum gelatinosum (Archibald & Bold) Ettl & Gärtner, 1987. Штамм IBSS-99. Chlamydomonadales, Chlorococcaceae. Получен из коллекции КНУ в мае 2009 г. как штамм ACKU 631-06 (15 К1А). Изолировал Р. А. Archibald, предположительно до 1970 г., из почвы торфяного болота в округе Элкхарт (штат Индиана, США). Депонировал в SAG (64.80) Р. А. Archibald, предположительно до 1980 г. По молекулярным данным SAG и (Каwasaki et al., 2015) идентифицирован как Chlorococcum oleofaciens Trainor & Bold, 1954. Базионим: Chlorococcum gelatinosum Archibald et Bold, 1970. Субкультура: UTEX 1773. GenBank IDs: KX147356; KM020103; JN968584; KX782323; AB983631; AB983613. Среда: BBM + агар.
- 13. *Pseudospongiococcum protococcoides* Gromov & Mamkaeva, 1974. **Штамм IBSS-10.** Chlamydomonadales, Chlorococcaceae. Получен из коллекции СПбГУ в марте 2006 г. как штамм CALU-221. Изолировал Б. В. Громов в 1962 г. из поверхностного слоя почвы в окрестностях г. Севастополя. GenBank ID: KU057947. Среда: BBM + агар.
- 14. *Spongiochloris spongiosa* (Vischer) Starr, 1955. **Штамм IBSS-100.** Chlamydomonadales, Chlorococcaceae. Базионим: *Asterococcus spongiosus* Vischer, 1945. Получен из коллекции КНУ в 2009 г. как штамм АСКИ 649-06, Vischer 318. Изолировал из почвы W. Vischer в 1942 г. в Нижнем Энгадине (Швейцария). Депонировал в SAG (280-2b) Е. G. Pringsheim в 1954 г. Субкультуры: ССАР 3/1; UTEX 1. GenBank IDs: KR607497; MK541715; AF395511; U34776.1. Среда: BBM + агар.
- 15. *Chlorosarcinopsis* sf *dissociata* Herndon, 1958. Штамм IBSS-107. Chlamydomonadales, Chlorosarcinaceae. Получен из коллекции КНУ в 2011 г. как штамм АСКИ 309-04. Сведения о происхождении штамма в каталогах АСКИ отсутствуют. Среда: BBM + агар.
- 16. *Dunaliella salina* (Dunal) Teodoresco, 1905. **Штамм IBSS-79.** Chlamydomonadales, Dunaliellaceae. Изолировал в 2006 г. Н. В. Шадрин из солёного озера на мысе Херсонес в окрестностях г. Севастополя. Выделила в чистую культуру и определила Н. В. Данцюк. Среда: Ben-Amotz + arap.

- 17. *Dunaliella salina* (Dunal) Teodoresco, 1905. **Штамм IBSS-92.** Chlamydomonadales, Dunaliellaceae. Изолировал А. Б. Боровков в 2008 г. из солёного озера Донузлав (Республика Крым, Россия). Выделила в чистую культуру и определила Н. В. Данцюк. Среда: Ben-Amotz + агар.
- 18. *Dunaliella salina* (Dunal) Teodoresco, 1905. **Штамм IBSS-86.** Chlamydomonadales, Dunaliellaceae. Изолировал Н. В. Шадрин в 2008 г. из солёного озера Сиваш (у западного берега) (Красноперекопский р-н, Республика Крым). Выделила в чистую культуру и определила Н. В. Данцюк. Среда: Ben-Amotz + агар.
- 19. **Dunaliella salina** (Dunal) Teodoresco, 1905. **Штамм IBSS-78.** Chlamydomonadales, Dunaliellaceae. Изолировала Т. А. Кухарева в мае 2017 г. из солёного озера Кояшское (юг Керченского п-ова, Республика Крым). Выделила в чистую культуру и определила Н. В. Данцюк. Среда: Ben-Amotz + агар.
- 20. **Dunaliella tertiolecta** Butcher, 1959. **Штамм IBSS-87.** Chlamydomonadales, Dunaliellaceae. Штамм получен в январе 2003 г. из коллекции водорослей турецкого Института морских наук (г. Эрдемли) как PLY-83. Аутентичный штамм депонирован в Коллекции культур морских водорослей Морской биологической ассоциации (г. Плимут, Великобритания). Штамм изолировал В. Føyn в 1928 г. в заливе Осло-фьорд (Атлантический океан) у побережья Юго-Восточной Норвегии. Субкультуры: CCAP19/6B; UTEX LB999; CCMP364. GenBank IDs: AY572957; HM243579; HQ828109; JF260981; KJ094612; KJ756820. Среда: Ben-Amotz + arap.
- 21. *Haematococcus pluvialis* Flotow, 1844. **Штамм IBSS-16.** Chlamydomonadales, Наетасоссасеае. Получен в 2002 г. из коллекции культур зелёных водорослей лаборатории альгологии Ботанического института имени В. Л. Комарова РАН от В. М. Андреевой как штамм LABIK 927-1 (Mainx). Выделен в Чехии. Точное время и место выделения неизвестны. Идентичен штамму CALU-79 *Chlorococcum wimmeri* Rabenhorst by Mainx = *Haematococcus pluvialis* Flotow emend. Wille; Coll. Pringsheim, Praha, A-93. Синоним: *Haematococcus lacustris* (Girod-Chantrans) Rostafinski, 1875 (Nakada & Ota, 2016). Среда: OHM + агар.
- 22. *Наетасоссиs pluvialis* Flotow, 1844. **Штамм IBSS-18.** Chlamydomonadales, Наетасоссасеае. Штамм изолировала Г. С. Минюк в 2003 г. в окрестностях г. Адлера из красновато-бурого налёта на стенках пустого бассейна для культивирования *Arthrospira platensis* на предприятии «ООО АгроВиктория» (Имеретинская низменность, пос. Весёлое-Псоу, Адлерский р-н, Краснодарский край). Географические координаты района 43°25′07″N, 40°00′09″E; высота над уровнем моря 7 м. В чистую культуру выделила О. А. Галатонова. Синоним: *Haematococcus lacustris* (Girod-Chantrans) Rostafinski, 1875. GenBank ID: KU193764.1. Среда: OHM + агар.
- 23. *Haematococcus pluvialis* Flotow, 1844. **Штамм IBSS-17.** Chlamydomonadales, Haematococcaceae. Получен из коллекции ИФР в 2004 г. как штамм IPPAS H-239. В коллекцию IPPAS передан из коллекции Чехословацкой академии наук (ЧСАН) в 1958 г. как штамм А-63, Прага, Prát. Изолировал W. Vischer в 1923 г. в Швейцарии (Ботанический сад Базельского университета); депонировал в коллекцию SAG (34-1d) в 1954 г. Е. G. Pringsheim. Субкультуры: ССАР 34/1D = CALU-333 = JSBG BS-2. Синоним: *Haematococcus lacustris* (Girod-Chantrans) Rostafinski, 1875. GenBank IDs: KC153467; MG022681. Среда: ОНМ + агар.
- 24. *Haematococcus pluvialis* Flotow, 1844. **Штамм IBSS-73.** Chlamydomonadales, Haematococcaceae. Получен в 2007 г. из коллекции Института гидробиологии Китайской АН как штамм FACHB-712. Изолирован в 2007 г. из озера Донху (г. Ухань, провинция Хубэй, Китай). Синоним: *Haematococcus lacustris* (Girod-Chantrans) Rostafinski, 1875. Среда: ОНМ + агар.

- 25. *Haematococcus pluvialis* Flotow, 1844. **Штамм IBSS-74.** Chlamydomonadales, Наетасоссасеае. Изолировал Н. В. Шадрин в 2008 г. в районе Центрального Кавказа из лужицы подтаявшего снега на левом ледниковом склоне ущелья Безенги (Миссес-Кош, Кабардино-Балкария). Географические координаты района 43°03′25″N, 43°05′49″E; высота над уровнем моря 2200 м. В чистую культуру выделила Н. В. Данцюк. Синоним: *Haematococcus lacustris* (Girod-Chantrans) Rostafinski, 1875. GenBank ID: KU193763.1. Среда: ОНМ + агар.
- 26. *Haematococcus pluvialis* Flotow, 1844. **IIIтамм IBSS-75.** Chlamydomonadales, Наетатососсасеае. Изолировала И. Н. Дробецкая в 2008 г. в г. Севастополе из красно-бурого осадка на дне ёмкости для воды (балкон многоэтажного жилого дома). Географические координаты района 44°36′00″N, 33°32′00″E; высота над уровнем моря 232 м. В чистую культуру выделила Н. В. Данцюк. Синоним: *Haematococcus lacustris* (Girod-Chantrans) Rostafinski, 1875. GenBank ID: KU193762.1. Среда: OHM + агар.
- 27. *Haematococcus pluvialis* Flotow, 1844. **Штамм IBSS-108.** Chlamydomonadales, Наетатососсасеае. Изолировал Д. А. Давыдов в 2011 г. на о-ве Северо-Восточная Земля (архипелаг Шпицберген, Норвегия) из бассейна с красным налётом на гальке (глубина 0,1 м). Материал был получен в 2015 г. Выделила в чистую культуру в 2017 г. Н. В. Данцюк. Синоним: *Haematococcus lacustris* (Girod-Chantrans) Rostafinski, 1875. Среда: ОНМ + агар.
- 28. *Haematococcus pluvialis* Flotow, 1844. **Штамм IBSS-111.** Chlamydomonadales, Haematococcaceae. Изолировала И. Н. Чубчикова в 2018 г. в г. Севастополе (Максимова дача) из красно-бурого налёта на стенках пластиковой ёмкости для воды. В чистую культуру выделила Н. В. Данцюк. Синоним: *Haematococcus lacustris* (Girod-Chantrans) Rostafinski, 1875. Среда: ОНМ + агар.
- 29. Neochloris oleoabundans S. Chantanachat & H. C. Bold, 1962. Штамм IBSS-101. Sphaeropleales, Neochloridaceae. Получен в 2009 г. от ООО «Ихляс-Агро-Энергия» (г. Саки, Республика Крым) как штамм из коллекции UTEX, номер неизвестен. Изолировал S. Chantanachat в 1958–1962 гг. в Саудовской Аравии в песчаных дюнах пустыни Руб-эль-Хали. Депонировал в коллекцию UTEX H. C. Bold в 1962 г. Синоним: Ettlia oleoabundans (S. Chantanachat & H. C. Bold) J. Komárek, 1989 (Chlorophyceae; Chlamydomonadales; Chlamydomonadales incertae sedis) (Кома́гек, 1989). GenBank IDs: KX350066; JX978410. Данные по сборке генома и транскриптома в GenBank: PRJNA412701; PRJNA354501; PRJNA305197; PRJNA297494; PRJNA79207. Среда: BBM + агар.
- 30. *Coelastrella rubescens* Kaufnerová & Eliás, 2013. **Штамм IBSS-12.** Sphaeropleales, Scenedesmaceae, Coelastroideae. Получен в 2006 г. из коллекции ИФР как *Scotiellopsis rubescens* Vinatzer, 1975, штамм IPPAS H-350. В ИФР поступил в 1988 г. из Ботанического института Инсбрукского университета от J. Lukavský как штамм Vinatzer/Insbruck V195 (CCALA 475). Изолировал G. Vinatzer в 1988 г. из почвы в Доломитовых Альпах (Южный Тироль, Италия). GenBank ID: KT962984.1. Среда: BBM + агар.
- 31. *Coelastrella* sp. Штамм IBSS-112. Sphaeropleales, Scenedesmaceae, Coelastroideae. Получен из филиала Тегеранского университета как штамм KNUA037 в 2020 г. Выделен на побережье Каспийского моря (г. Нур-Султан, Казахстан). GenBank ID: KT883911. Среда: BBM + агар.
- 32. **sf** *Scotiellopsis* **sp. Штамм IBSS-109.** Sphaeropleales, Scenedesmaceae, Coelastroideae. Получен из коллекции КНУ в 2011 г. как штамм АСКИ 144-02. В коллекции АСКИ информация о происхождении штамма отсутствует. Среда: BBM + агар.

- 33. *Acutodesmus dimorphus* (Turpin) Р. М. Tsarenko, 2001. **Штамм IBSS-89.** Sphaeropleales, Scenedesmaceae. Изолировали Н. В. Данцюк и И. Н. Чубчикова в 2006 г. из пресноводного водоёма в окрестностях г. Севастополя (пос. Сахарная Головка). Выделила в чистую культуру Н. В. Данцюк. Определил П. М. Царенко в 2008 г. Среда: BBM + агар.
- 34. Desmodesmus communis (E. Hegewald) E. Hegewald, 2000. Штамм Desmodesmoideae. Получен Sphaeropleales, Scenedesmaceae, ИЗ коллекции ИФР в мае 2007 г. как Scenedesmus quadricauda (Turpin) Brébisson, 1835, штамм IPPAS S-313, Greifswald/15. Изолирован в окрестностях г. Грайфсвальда (Германия). Субкультуры: CAUP H-522 = CCALA-463. GenBank ID: MN178487. Среда: BBM + агар.
- 35. *Scenedesmus obliquus* (Turpin) Kützing, 1833. **Штамм IBSS-9.** Sphaeropleales, Scenedesmaceae, Scenedesmoideae. Получен из коллекции СПбГУ в марте 2006 г. как штамм CALU-13. В CALU поступил в 1960 г. из коллекции ЧСАН как штамм Pringsheim, Praha, A-125. Субкультуры: CCALA 45; IPPAS S-305. Синонимы: *Tetradesmus obliquus* (Turpin) M. J. Wynne, 2016; *Acutodesmus obliquus* (Turpin) Hegewald & Hanagata, 2000 (Wynne & Hallan, 2015). Среда: BBM + агар.
- 36. *Scenedesmus obliquus* (Turpin) Kützing, 1833. **Штамм IBSS-81.** Sphaeropleales, Scenedesmaceae, Scenedesmoideae. Получен из коллекции Института гидробиологии Китайской АН в 2007 г. как штамм FACHB-12. Изолирован в провинции Хэбэй (Китай) в 1960 г. Среда: BBM + агар.
- 37. Scenedesmus rubescens (Dangeard) Kessler et al., 1997. Штамм IBSS-91. Sphaeropleales, Scenedesmaceae, Scenedesmoideae. Синоним: Halochlorella rubescens P. J. L. Dangeard, 1966. Поступил из коллекции ИФР в 2007 г. как штамм IPPAS D-292. В коллекцию IPPAS передан из Института ботаники АН Узбекской ССР в 1989 г. Выделен на п-ове Камчатка из налёта на берегу озера. Субкультура: CALU-449. Последнее определение: Э. С. Челебиева и С. В. Скребовская, 2013 г. (Челебієва та Скребовська, 2013). В настоящее время рассматривается как Halochlorella rubescens (Wynne & Furnari, 2014). GenBank ID: KU057946. Среда: BBM + агар.
- 38. Scenedesmus rubescens (Dangeard) Kessler et al., 1997. Штамм IBSS-102. Sphaeropleales, Scenedesmaceae, Scenedesmoideae. Поступил из коллекции КНУ в 2009 г. как штамм АСКИ 647-06. Изолировал F. Dangeard в 1965 г. в окрестностях г. Бордо (Франция) из культуры бурых водорослей. Депонировал в SAG E. Kessler. Субкультуры: SAG 595 = CCAP 232/1. Синонимы: Halochlorella rubescens P. J. L. Dangeard, 1966; Chlorella fusca var. rubescens Kessler et al., 1968. GenBank IDs: X74002; MK975491; HG514422; HG514373; HG514402. Среда: ВВМ + агар.
- 39. *Ankistrodesmus* sp. Corda, 1838. **Штамм IBSS-85.** Sphaeropleales, Selenastraceae. Получен из коллекции Института гидробиологии Китайской АН в 2007 г. как штамм FACHB-49. Изолировал К. Lin в 1979 г. в г. Ухань (Китай). Определил L. Li. Среда: BBM + arap.
- 40. *Ankistrodesmus* sp. Corda, 1838. **Штамм IBSS-93.** Sphaeropleales, Selenastraceae. Штамм изолировала H. В. Данцюк в 2008 г. из пресноводного родникового водоёма в окрестностях г. Севастополя (пос. Сахарная Головка). Выделила в чистую культуру и определила H. В. Данцюк. Среда: BBM + агар.

## Класс Trebouxiophyceae.

41. *Chlorella fusca* Shihira et Krauss, 1965. **Штамм IBSS-110.** Chlorellales, Chlorellaceae. Получен из коллекции КНУ в 2011 г. как штамм АСКИ 381-04. Изолировал Э. Н. Демченко в 2009 г. в региональном ландшафтном парке «Гранитно-степное Побужье» (Украина). В настоящее время вид рассматривается как *Desmodesmus abundans* (Kirchner) Е. Н. Hegewald, 2000 (AlgaeBase, 2021). Среда: BBM + агар.

- 42. *Chlorella* **sp. Штамм IBSS-103.** Chlorellales, Chlorellaceae. Получен в 2009 г. от ООО «Ихляс-Агро-Энергия» (г. Саки, Республика Крым) как штамм из коллекции UTEX. Более детальная информация о штамме отсутствует. Среда: BBM + агар.
- 43. *Botryococcus braunii* Kützing, 1849. **Штамм IBSS-76.** Trebouxiales, Botryococcaceae. Получен из Коллекции культур пресноводных водорослей Института гидробиологии Китайской АН в 2007 г. как штамм FACHB-759. Изолировал С.-Н. Хи из озера в г. Куньмин (провинция Юньнань, Китай). Выделил в чистую культуру Q. Lin, идентифицировал R. Li. Среда: BBM + агар. **Класс Eustigmatophyceae.**
- 44. *Chlorobotrys neglectus* Pascher & Geitler, 1925. **Штамм IBSS-90.** Eustigmatales, Eustigmataceae. Штамм изолировала Γ. С. Минюк в 2006 г. из налёта на стенках пустой ёмкости для пресной воды (балкон многоэтажного дома) в г. Севастополе. Определил П. М. Царенко. Синоним: *Chloridella neglecta* (Pascher & Geitler) Pascher. Среда: BBM + агар.

Заключение. Специализированная рабочая коллекция микроводорослей IBSSca содержит 44 штамма эврибионтных и экстремофильных видов Chlorophyceae с выраженной способностью к гиперсинтезу вторичных каротиноидов и липидов при экстремальных внешних воздействиях. Создание и пополнение коллекции является базовым условием проведения сравнительных исследований особенностей роста и вторичного каротиногенеза у микроводорослей различной таксономической и экологической специализации, направленных на выявление физиологобиохимических механизмов стресс-толерантности экстремобионтных видов и на поиск новых коммерчески перспективных продуцентов астаксантина и технически ценных липидов. По материалам исследований, выполненных на базе коллекции за 2005–2020 гг., опубликовано более 30 статей в отечественных и зарубежных научных журналах, индексируемых в наукометрических базах РИНЦ, Scopus и WoS (ключевые работы процитированы выше), сделано 23 доклада на международных и региональных конференциях, зарегистрировано 3 патента на изобретение способов культивирования трёх видов микроводорослей для получения каротиноидов 6 и липидов (Патент 2541455, 2015; Патент 2661086, 2018; Патент 2715039, 2020).

Работа выполнена в рамках государственного задания ФИЦ ИнБЮМ по теме «Исследование механизмов управления продукционными процессами в биотехнологических комплексах с целью разработки научных основ получения биологически активных веществ и технических продуктов морского генезиса» (№ гос. регистрации 121030300149-0).

**Благодарность.** Авторы выражают искреннюю благодарность всем коллегам, способствовавшим созданию в ФИЦ ИнБЮМ экспериментального фонда каротиногенных микроводорослей, и прежде всего д. б. н., проф. И. Ю. Костикову, д. б. н., проф. П. М. Царенко, д. б. н., проф. Д. А. Лосю, д. б. н., проф. А. В. Пиневичу за предоставление штаммов микроводорослей из эталонных коллекций и помощь в таксономической идентификации полевых изолятов. Отдельная благодарность в. н. с. к. б. н. Н. В. Шадрину (ФИЦ ИнБЮМ) за помощь в пополнении коллекции штаммами из Института гидробиологии Китайской АН и полевыми образцами из гиперсолёных озёр Крыма.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

- 1. Андреева В. М. Почвенные и аэрофильные зелёные водоросли (Chlorophyta: Tetrasporales, Chlorococcales, Chlorosarcinales). Санкт-Петербург: Наука, 1998. 351 с. [Andreeva V. M. Pochvennye i aerofil'nye zelenye vodorosli (Chlorophyta: Tetrasporales, Chlorococcales, Chlorosarcinales). Saint Petersburg: Nauka, 1998,
- 351 p. (in Russ.)]
- 2. Анисимова О. В., Гололобова М. А. *Краткий определитель родов водорослей*. Учебное пособие. Москва: МГУ, 2006. 159 с. [Anisimova O. V., Gololobova M. A. *Kratkii opredelitel' rodov vodoroslei*. *Uchebnoe posobie*. Moscow: MGU, 2006, 159 p. (in Russ.)]

- 3. Гайсина Л. А., Фазлутдинова А. И., Кабиров Р. Р. Современные методы выделения и культивирования водорослей: учебное пособие. Уфа: Изд-во БГПУ, 2008. 152 с. [Gaisina L. A., Fazlutdinova A. I., Kabirov R. R. Sovremennye metody vydeleniya i kul'tivirovaniya vodoroslei: uchebnoe posobie. Ufa: Izd-vo BGPU, 2008, 152 p. (in Russ.)]
- 4. Данцюк Н. В., Челебиева Э. С., Чеканов К. А. Новые изоляты зелёной микроводоросли Haematococcus pluvialis Flotow (Chlorophyceae) районов Причерноморья различных // Водоросли и цианобактерии в природных и сельскохозяйственных экосистемах : материалы II Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 105-летию со дня рожд. проф. Эмилии Андриановны Штиной, 19-23 окт. 2015 г. Киров, 2015. С. 98-102. [Dantsyuk N. V., Chelebieva E. S., Chekanov K. A. Novye izolyaty zelenoi mikrovodorosli Haematococcus pluvialis Flotow (Chlorophyceae) iz razlichnykh raionov Prichernomor'ya. Vodorosli i tsianobakterii v prirodnykh i sel'skokhozyaistvennykh ekosistemakh: materialy II Mezhdunar. nauch.prakt. konf., posvyashch. 150-letiyu so dnya rozhd. prof. Emilii Andrianovny 19-23 Oct., 2015. Kirov, 2015, pp. 98-102. (in Russ.)]
- Дедусенко-Щеголева Н. Т., Матвиенко А. М., Шкорбатов Л. А. Определитель пресноводных водорослей СССР. Вып. 8. Зелёные водоросли. Класс вольвоксовые. Ленинград: Изд-во АН СССР, 1959. 230 с. [Dedusenko-Shchegoleva N. T., Matvienko A. M., Shkorbatov L. A. Opredelitel' presnovodnykh vodoroslei SSSR. Iss. 8. Zelenye vodorosli. Klass vol'voksovye. Leningrad: Izd-vo AN SSSR, 1959, 230 p. (in Russ.)]
- 6. Микроорганизмы и грибы // Депозитарий живых систем «Ноев ковчег» : [сайт]. [Mikroorganizmy i griby. Depozitarii zhivykh sistem "Noev kovcheg" : [site]. (in Russ.)]. URL: http://depository.msu.ru/category-project/mikroorganizmy-i-griby#fung\_infosys [accessed: 14.10.2020].
- 7. Костіков І. Ю., Демченко Е. М., Березовська М. А. Колекція культур водоростей Київського національного університету імені Тараса Григоровича Шевченка. Каталог штамів (2008 р.) // Чорноморський ботанічний журнал.

- 2009. T. 5, № 1. C. 37–79. [Kostikov I. Yu., Demchenko E. M., Berezovska M. A. Kolektsiia kultur vodorostei Kyivskoho natsionalnoho universytetu imeni Tarasa Hryhorovycha Shevchenka. Kataloh shtamiv (2008 r.). *Chornomorskyi botanichnyi zhurnal*, 2009, vol. 5, no. 1, pp. 37–79. (in Ukr.)]
- 8. Минюк Г. С. *Каротиногенные микроводоросли. База данных.* А. с. № 2020621092. Заявка № 2020620921. 10.06.2020, опубл. 30.06.2020. Бюл. № 7. [Minyuk G. S. *Karotinogennye mikrovodorosli. Baza dannykh.* A. s. No. 2020621092. Zayavka No. 2020620921. 10.06.2020, opubl. 30.06.2020. Bull. no. 7. (in Russ.)]
- 9. Минюк Г. С., Челебиева Э. С., Чубчикова И. Н., Данцюк Н. В., Дробецкая И. В., Сахонь Е. Г., Чивкунова О. Б., Чеканов К. А., Лобакова Е. С., Сидоров Р. А., Соловченко А. Е. Влияние рН и СО2 на рост и метаболизм Coelastrella микроводоросли (Scotiellopsis) rubescens // Физиология растений. 2016. Т. 63, вып. 4. С. 601-610. [Minyuk G. S., Chelebieva E. S., Chubchikova I. Dantsyuk N. V., Drobetskaya I. V., Sakhon E. G., Chivkunova Ο. В., Chekanov K. Lobakova E. S., Sidorov R. A., Solovchenko A. E. effects  $CO_2$ on Coelastrella (Scotiellopsis) rubescens growth and metabolism. Fiziologiya rastenii, 2016, vol. 63, iss. 4, pp. 601-610. (in Russ.)]. http://doi.org/10.7868/ S0015330316040102
- 10. Патент 2541455 Российская Федерация. МПК6 C12N 1/12. Способ культивирования одноклеточной зелёной водоросли Haematococcus pluvialis / Минюк Г. С., Терентьева Н. В., Дробецкая И. В., Чубчикова И. Н.; ФГБУН «Институт морских биологических исследований имени А. О. Ковалевского РАН». № ГР 2014149886/93; заявл. 03.10.2014; приор. 12.05.2008; опубл. 10.02.2015. Бюл. № 4. [Patent 2541455 Rossiiskaya Federatsiya. C12N 1/12. Sposob kul'tivirovaniya MPK6 odnokletochnoi zelenoi vodorosli Haematococcus pluvialis / Minyuk G. S., Terent'eva N. V., Drobetskaya I. V., Chubchikova I. N.; "Institut morskikh biologicheskikh **FGBUN** issledovanii imeni A. O. Kovalevskogo RAN". No. GR 2014149886/93; zayavl. 03.10.2014; prior. 12.05.2008; opubl. 10.02.2015. Bull. no. 4. (in Russ.)]

- 2661086 11. Патент Российская Федерация. ПК C12N 1/12; C12P 23/00; C12R 1/89. кильтивирования микроводоросли Coelastrella rubescens для получения каротиноидов и липидов / Минюк Г. С., Чубчикова И. Н., Дробецкая И. В., Данцюк Н. В., Челебиева Э. С.; ФГБУН «Институт морбиологических исследований имени А. О. Ковалевского РАН». № ГР 2017110990; 31.03.2017; опубл. 11.07.2018. заявл. Бюл. № 20. [Patent 2661086 Rossiiskaya Federatsiya. PK C12N 1/12; C12P 23/00; C12R 1/89. Sposob kul'tivirovaniya mikrovodorosli Coelastrella rubescens dlya polucheniya karotinoidov i lipidov / Minyuk G. S., Chubchikova I. N., Drobetskaya I. V., Dantsyuk N. V., Chelebieva E. S.; FGBUN "Institut morskikh biologicheskikh issledovanii imeni A. O. Kovalevskogo RAN". No. GR 2017110990; zayavl. 31.03.2017; opubl. 11.07.2018. Bull. no. 20. (in Russ.)]
- 12. Патент 2715039 Российская Федерация. MPK C12N 1/12; C12P 23/00; C12R 1/89. Способ кильтивирования микроводоросли zofingiensis для Chromochloris получения липидов и каротиноидов / Минюк Г. С., Чубчикова И. Н., Данцюк Н. В., Дробецкая И. В., Челебиева Э. С., Сидоров Р. А., Соловченко А. Е. ; ФИЦ Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского. № ГР 2715039; заявл. 01.07.2019; опубл. 21.02.2020. Бюл. № 6. [Patent 2715039 Rossiiskaya Federatsiya MPK C12N 1/12; C12P 23/00; C12R 1/89. Sposob kul'tivirovaniya mikrovodorosli Chromochloris zofingiensis dlya polucheniya lipidov i karotinoidov / Minyuk G. S., Chubchikova I. N., Dantsyuk N. V., Drobetskaya I. V., Chelebieva E. S., Sidorov R. A., Solovchenko A. E.; FITs Institut biologii yuzhnykh morei imeni A. O. Kovalevskogo. No. GR 2715039; zayavl. 01.07.2019; opubl. 21.02.2020. Bull. no. 6. (in Russ.)]
- 13. Темралеева А. Д., Минчева Е. В., Букин Ю. С., Андреева А. М. Современные методы выделения, культивирования и идентификации зелёных водорослей (Chlorophyta). Кострома: Костромской печатный дом, 2014. 215 с. [Temraleeva A. D., Mincheva E. V., Bukin Yu. S., Andreeva A. M. Sovremennye metody vydeleniya, kul'tivirovaniya i identifikatsii zelenykh vodoroslei

- (*Chlorophyta*). Kostroma : Kostromskoi pechatnyi dom, 2014, 215 p. (in Russ.)]
- 14. Челебиева Э. С., Минюк Г. С., Дробецкая И. В., Чубчикова И. Н. Физиолого-биохимические характеристики Ettlia carotinosa Komárek, 1989 (Chlorophyceae) в условиях экспериментального стресса // Морской экологический журнал. 2013. Т. 12, № 2. С. 78–87. [Chelebieva E. S., Minyuk G. S., Drobetskaya I. V., Chubchikova I. N. Dynamics of chemical composition of Ettlia carotinosa Komárek, 1989 (Chlorophyceae) under experimental induction of secondary carotenogenesis. Morskoj ekologicheskij zhurnal, 2013, vol. 12, no. 2. pp. 78–87. (in Russ.)]
- 15. Челебієва Е. С., Скребовська С. В. Місце в системі Chlorophyta одноклітинної автоспороутворюючої водорості *Pseudospongiococcum protococcoides // Вісник Львівського університету. Серія біологічна*. 2013. Вип. 62. С. 75–81. [Chelebiieva E. S., Skrebovska S. V. Unicellular spore-forming alga *Pseudospongiococcum protococcoides* position detection in the system Chlorophyta. *Visnyk Lvivskoho universytetu. Seriia biolohichna*, 2013, iss. 62, pp. 75–81. (in Ukr.)]
- 16. Чубчикова И. Н., Дробецкая И. В., Минюк Г. С., Данцюк Н. В., Челебиева Э. С. Скрининг одноклеточных зелёных водорослей как потенциальных источников природных 2. Особенности роста кетокаротиноидов. и вторичного каротиногенеза у представителей рода Bracteacoccus (Chlorophyceae) // Морской экологический журнал. 2011. Т. 10, № 1. C. 91–97. [Chubchikova I. N., Drobetskaya I. V., Minyuk G. S., Dantsyuk N. V., Chelebiyeva E. S. Screening of green microalgae as a potential source of natural ketocarotenoids. 2. Features growth and secondary carotenogenesis in the representatives of the genus Bracteacoccus (Chlorophyceae). Morskoj ekologicheskij zhurnal, 2011, vol. 10, no. 1, pp. 91–97. (in Russ.)]
- 17. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway: [site]. URL: https://www.algaebase.org/search/species/detail/?species\_id=27671 [accessed: 30.01.2021].
- 18. Ben-Amotz A., Avron M. The biotechnology of cultivating of the halotolerant alga *Dunaliella*. *Trends in Biotechnology*, 1990, vol. 8, pp. 121–126. https://doi.org/10.1016/0167-7799(90)90152-N
- 19. Ben-Amotz A., Katz A., Avron M. Accumulation of β-carotene in halotolerant algae: Purification

- and characterization of β-carotene-rich globules from *Dunaliella bardawil* (Chlorophyceae). *Journal of Phycology*, 1982, vol. 18, iss. 4, pp. 529–537. https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.1982.tb03219.x
- 20. Bischoff H. W., Bold H. C. *Phycological Studies*. IV. *Some Soil Algae From Enchanted Rock and Related Algal Species*. Austin, TX: University of Texas, 1963, vol. 6318, 95 p.
- Brand J. J., Andersen R. A., Nobles D. R. Jr. Maintenance of microalgae in culture collections. In: *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology*. 2<sup>nd</sup> ed. / A. Richmond, Q. Hu (Eds). Chichester, UK: John Wiley and Sons, 2013, pp. 80–89. https://doi.org/10.1002/9781118567166.ch5
- 22. Capelli B., Talbott S., Ding L. Astaxanthin sources: Suitability for human health and nutrition. *Functional Foods in Health and Disease*, 2019, vol. 9, no. 6, pp. 430–445. https://doi.org/10.31989/ffhd.v9i6.584
- 23. Chelebieva E. S., Dantsyuk N. V., Chekanov K. A., Chubchikova I. N., Drobetskaya I. V., Minyuk G. S., Lobakova E. S., Solovchenko A. E. Identification and morphological-physiological characterization of astaxanthin producer strains of *Haematococcus pluvialis* from the Black Sea region. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2018, vol. 54, no. 6, pp. 639–648. https://doi.org/10.1134/S0003683818060078
- Fábregas J., Domínguez A., Regueiro M., Maseda A., Otero A. Optimization of culture medium for the continuous cultivation of the microalga *Haematococcus pluvialis*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2000, vol. 53, pp. 530–535. https://doi.org/10.1007/s002530051652
- Fučíková K., Lewis L. A. Intersection of *Chlorella*, *Muriella* and *Bracteacoccus*: Resurrecting the genus *Chromochloris* Kol et Chodat (Chlorophyceae, Chlorophyta). *Fottea*, 2012, vol. 12, iss. 1, pp. 83–93. https://doi.org/10.5507/fot.2012.007
- 26. Han D., Li Y., Hu Q. Astaxanthin in microalgae: Pathways, functions and biotechnological implications. *Algae*, 2013, vol. 28, iss. 2, pp. 131–147. https://doi.org/10.4490/algae.2013.28.2.131
- 27. Kawasaki Y., Nakada T., Tomita M. Taxonomic revision of oil-producing green algae, *Chlorococcum oleofaciens* (Volvocales, Chlorophyceae), and its relatives. *Journal*

- *of Phycology*, 2015, vol. 51, iss. 5, pp. 1000–1016. https://doi.org/10.1111/jpy.12343
- 28. Komárek R. Polynuclearity of vegetative cells in coccal green algae from the family Neochloridaceae. *Archiv für Protistenkunde*, 1989, vol. 137, iss. 3, pp. 255–273. https://doi.org/10.1016/S0003-9365(89)80033-8
- 29. Lemoine Y., Schoefs B. Secondary ketocarotenoid astaxanthin biosynthesis in algae: A multifunctional response to stress. *Photosynthesis Research*, 2010, vol. 106, iss. 1–2, pp. 155–177. https://doi.org/10.1007/s11120-010-9583-3
- 30. Li J., Zhu D., Niu J., Shen S., Wang G. An economic assessment of astaxanthin production by large scale cultivation of *Haematococcus pluvialis*. *Biotechnology Advances*, 2011, vol. 29, iss. 6, pp. 568–574. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.04.001
- 31. Lourenço S. Microalgae culture collections, strain maintenance, and propagation. In: *Handbook of Microalgae-based Processes and Product* / E. Jacob-Lopez, M. J. Queroz, M. M. Maroneze, L. Q. Zepka (Eds). Cambridge, MA: Academic Press, 2020, pp. 49–84. https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818536-0.00003-8
- 32. Minyuk G. S., Chelebieva E. S., Chubchikova I. N. Secondary carotenogenesis of the green microalga *Bracteacoccus minor* (Chodat) Petrova (Chlorophyta) in a two-stage culture. *International Journal on Algae*, 2014, vol. 16, iss. 4, pp. 354–368. http://dx.doi.org/10.1615/InterJAlgae.v16.i4.50
- 33. Minyuk G., Chelebieva E., Chubchikova I., Dantsyuk N., Drobetskaya I., Sakhon E., Chekanov K., Solovchenko A. Stress-induced secondary carotenogenesis in *Coelastrella rubescens* (Scenedesmaceae, Chlorophyta), a producer of value-added keto-carotenoids. *Algae*, 2017, vol. 32, iss. 3, pp. 245–259. https://doi.org/10.4490/algae.2017.32.8.6
- 34. Minyuk G., Sidorov R., Solovchenko A. Effect of nitrogen source on the growth, lipid, and valuable carotenoid production in the green microalga *Chromochloris zofingiensis. Journal of Applied Phycology*, 2020, vol. 32, iss. 2, pp. 923–935. https://doi.org/10.1007/s10811-020-02060-0
- 35. Nakada T., Ota S. What is the correct name for the type of *Haematococcus* Flot. (Volvocales, Chlorophyceae)? *Taxon*, 2016, vol. 65, iss. 2, pp. 343–348. https://doi.org/10.12705/652.11

- 36. Pröschold T., Darienko T., Krienitz L., Coleman A. W. *Chlamydomonas schloesseri* sp. nov. (Chlamydophyceae, Chlorophyta) revealed by morphology, autolysin cross experiments, and multiple gene analyses. *Phytotaxa*, 2018, vol. 362, iss. 1, pp. 021–038. https://doi.org/10.11646/phytotaxa.362.1.2
- 37. Shah M. R., Liang Y., Cheng J. J., Daroch M. Astaxanthin-producing green microalga *Haematococcus pluvialis*: From single cell to high value commercial products. *Frontiers in Plant Science*, 2016, vol. 7, art. 531 (28 p.). https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00531
- 38. Solovchenko A. E. Recent breakthroughs in the biology of astaxanthin accumulation by microalgal cell. *Photosynthesis Research*, 2015, vol. 125,

- pp. 437–449. https://doi.org/10.1007/s11120-015-0156-3
- 39. World Data Centre for Microorganisms. Culture Collections Information Worldwide: [site]. URL: http://ccinfo.wdcm.org/ [accessed: 30.01.2021].
- Wynne M. J., Hallan J. K. Reinstatement of *Tetradesmus* G. M. Smith (Sphaeropleales, Chlorophyta). *Feddes Repertorium*, 2015, vol. 126, iss. 3–4, pp. 83–86. https://doi.org/10.1002/ fedr.201500021
- 41. Zhang C., Chen X., Too H. Microbial astaxanthin biosynthesis: Recent achievements, challenges, and commercialization outlook. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2020, vol. 104, pp. 5725–5737. https://doi.org/10.1007/s00253-020-10648-2

# WORKING COLLECTION OF CAROTENOGENIC MICROALGAE LIVING CULTURES OF A. O. KOVALEVSKY INSTITUTE OF BIOLOGY OF THE SOUTHERN SEAS

N. V. Dantsyuk, E. S. Chelebieva, and G. S. Minyuk

A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS, Sevastopol, Russian Federation E-mail: nterent@mail.ru

The article contains information on the specialized working collection of carotenogenic microalgae maintained by the staff of the animal physiology and biochemistry department of A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS (IBSS). The collection was established within the framework of IBSS scientific and applied research to study the mechanisms of stress tolerance in eurybiontic and extremophilic single-celled phototrophs and to identify commercially significant sources of highly valuable ketocarotenoids of astaxanthin group used for medicine and food production. The collection contains 44 microalgal strains of various taxonomic and ecological specialization with a pronounced ability to hypersynthesize secondary carotenoids and lipids under extreme conditions (drying, nutrient starvation, high-intensity illumination, extreme temperature and salinity, effect of toxicants, etc.). The main ways to replenish the fund are direct exchange of carotenogenic species with leading Russian and foreign collections of microalgae and own field sampling in the Black Sea areas of Crimea and Caucasus. The majority of strains in the collection represent two orders of the class Chlorophyceae: Chlamydomonadales (25 strains) and Sphaeropleales (15 strains), since the phenomenon of secondary carotenogenesis is widespread in these orders. Out of them, inhabitants of ephemeral freshwater ponds predominate, as well as aerophilic and soil microalgae. All strains are maintained under controlled conditions on agarized mineral media as pure cultures. Description of the collection accession includes the following data: a) current taxonomic status of the species verified according to updated information from corresponding collections and algological databases, namely AlgaeBase and NCBI Taxonomy Browser; b) species basionym and known synonyms; c) date and source of the strain deposition; d) author's surname, geographic location, and biotope, from which the strain was isolated; e) accession number of sequences associated with the strain in NCBI (if any); and f) nutrient medium, on which the strain is maintained in the IBSS collection. The significance of the collection for morphological, biological, physiological, and biochemical studies of growth, secondary carotenogenesis, and biotechnological potential in green microalgae is discussed.

Keywords: carotenogenic microalgae, collection storage, Chlorophyta, carotenoids, astaxanthin