

УДК 582.261.1:57.082.5(477.75)

КОЛЛЕКЦИЯ КУЛЬТУР ДИАТОМОВЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ КАРАДАГСКОЙ НАУЧНОЙ СТАНЦИИ (КРЫМ)

© 2017 г. **Н. А. Давидович**, канд. биол. наук, зав. лаб.,
О. И. Давидович, н. с., **Ю. А. Подунай**, м. н. с.

Карадагская научная станция им. Т. И. Вяземского — природный заповедник РАН,
Феодосия, Россия
E-mail: karadag-algae@yandex.ru

Поступила в редакцию 28.11.2016 г. Принята к публикации 31.03.2017 г.

Несмотря на исключительную важность диатомовых в природных экосистемах, их генетический и биопродукционный потенциал почти не используется вследствие слабой изученности биологии и чрезвычайно низкой представленности в коллекциях культур. Отсутствует необходимый опыт выделения клонов (штаммов) диатомовых, постановки и содержания в культурах, недостаточно полны представления о жизненных циклах диатомовых. На Карадагской научной станции (Крым) занимаются изучением диатомовых водорослей более 40 лет. К настоящему времени сформирована рабочая коллекция, которая включает более 400 клонов, относящихся к 27 морским и 7 пресноводным видам. Регулярно пересеваемые культуры содержатся на жидких средах. Помимо Чёрного моря, морские виды отобраны в различных регионах всех океанов, а пресноводные — в отдельных регионах Евразии. Результаты исследования коллекции культур необходимы как для решения ряда научных проблем (выявления репродуктивных особенностей, биогеографии видов, внутривидовой изменчивости), так и для потенциального практического использования диатомовых водорослей в биотехнологиях.

Ключевые слова: диатомовые, коллекция культур, клоны, жидкие питательные среды, Карадагская научная станция, Крым

Диатомовые представляют собой один из самых разнообразных отделов микроводорослей: уже описано около 30 тыс. видов, предполагается существование порядка 100 тыс. видов. В ходе эволюции, которая сопровождалась двумя этапами симбиогенеза и значительным латеральным переносом генов от прокариот и простейших, диатомовые приобрели ряд особенностей: уникальные комплексы генов, пути биосинтеза и физиологические свойства. Несмотря на исключительную важность диатомовых в круговороте вещества и энергии, их генетический и биопродукционный потенциал используется человеком крайне ограниченно вследствие слабой изученности биологии и чрезвычайно низкой, в отличие от других групп одноклеточных водорослей, представ-

ленности в коллекциях культур. Первый шаг на пути к возможному практическому использованию генетического и метаболического разнообразия диатомовых состоит в создании коллекции культур. Отметим, что в отечественных и мировых коллекциях в живом (активном) состоянии поддерживается крайне малое число видов диатомовых, особенно по сравнению с их огромным разнообразием. Проблемы содержания диатомовых водорослей в культурах отчасти связаны с особенностями воспроизведения, жизненных циклов и систем скрещивания диатомовых [3]. Сложность ведения культур усугубляется требовательностью диатомовых к качеству среды, чувствительностью к наличию метаболитов (автоингибированием) и необходимостью частых пересевов.

Многолетний опыт культивирования позволил создать в лаборатории водорослей и микробиоты Карадагской научной станции (КНС) обширную коллекцию клоновых культур диатомовых водорослей, полученных из разных мест Мирового океана и Евразийского континента. Основная цель данной статьи состоит в том, чтобы представить и охарактеризовать коллекцию, сравнив её с известными мировыми коллекциями микроводорослей, обсудить её значение и роль в выполнении научно-исследовательских работ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Отбор материала осуществляли стандартными гидробиологическими методами: путём соскоба обрастаний с поверхности либо с помощью планктонной сети [5]. Для получения клонов применяются различные методы [12], мы выполняли манипуляции при помощи микропипетки, что позволяло выделить и отмыть одиночную клетку. Операции осуществляли с использованием инвертированного микроскопа типа Nib-100 (произведён в Китае).

Морские виды водорослей в коллекции КНС содержатся в питательной среде ESAW [11] с небольшими модификациями [2], пресноводные — в среде DM [19]. Как показал наш многолетний опыт, среда ESAW обеспечивает хороший рост диатомовых разных родов, полученных из различных морей. Для доведения солёности среды до уровня, характерного для мест отбора проб, оригинальную среду (30 ‰) либо разбавляют дистиллированной водой, либо добавляют в неё необходимое количество хлорида натрия. Важным преимуществом искусственной морской воды является тот факт, что компоненты среды в необходимом количестве можно приготовить заранее и затем использовать в экспедиционных условиях или при работе в других, даже недостаточно оборудованных лабораториях. Среда на искусственной морской воде может быть приготовлена в различных лабораториях, находящихся вдали от моря, что позволяет унифицировать и стандартизировать условия содержания культур по большинству параметров.

Клоновые культуры в лаборатории водорослей и микробиоты КНС содержатся в стеклянных чашках Петри или конических колбах Эрленмейера,

размещённых в изолированной комнате с постоянно поддерживаемой температурой 20 ± 2 °C и естественным освещением со стороны окон, обращённых на север. Пересевы в свежую среду осуществляются с периодичностью 7–10 дней (в среднем для большинства видов). Часть клонов находится в специально оборудованном холодильнике со стеклянной передней дверцей при температуре 14 ± 2 °C и при укороченном фотопериоде (6 часов в сутки), что обеспечивает большую продолжительность интервалов между пересевами (до двух месяцев).

Ряд клонов в коллекции представляет второе и даже третье поколение, полученное в результате полового воспроизведения в смешанных посевах репродуктивно совместимых пар либо в результате гомоталлического воспроизведения отдельных клонов. Как следствие, у некоторых из них сформировалась своя генеалогическая история. Для ряда клонов установлена половая принадлежность. В отдельных случаях, когда пол не имеет внешних признаков (морфологических и поведенческих), определены скрещивающиеся типы. Для некоторых видов показана гетеро- и гомогаметность клонов, относящихся к комплементарным скрещивающимся типам.

Паспортизация клонов включает представление данных о месте и времени сбора, авторе, выделившем клон, солёности среды, при которой клон содержится. Периодически проводятся измерения длины и ширины клеток, диаметра или высоты их панцирей. Поскольку в жизненном цикле большинства диатомовых эти параметры изменяются весьма существенно (иногда на порядок величин), измерения проводятся ежеквартально. Одним из значимых элементов в процессе ведения культур в коллекции является схема, разработанная и применяемая нами для обозначения клонов. Лабораторная практика показала, что наименование клона должно отвечать следующим критериям: оно должно быть уникальным, содержать в явном виде информацию о клоне (виде микроводоросли), быть легко записываемым и считываемым, удобным в повседневном произношении, отвечать принципам автоматической систематизации (сортировки), быть криптографически анализируемым (т. е. должно позволять идентифицировать клон даже в случае, если из названия будут

стёрты один или несколько знаков). Мы разработали систему наименования клонов, которая отвечает всем указанным принципам. В этой системе название клона записывается следующим образом: Gs Y. MMDD-N, где Gs — первые буквы родового и видового названия водоросли, далее следуют пробел и дата выделения клона (Y — последняя цифра года, отделяется от последующих знаков точкой, MM — месяц, DD — день), N — собственное «имя» клона, обычно это одна буква латинского алфавита, отделяемая от предыдущих знаков дефисом. Благодаря такой системе наименований получается относительно короткая и информативная запись, включающая сведения о видовой принадлежности и дате выделения клона. При визуальном просмотре коллекции культур легко ориентироваться по видовому названию, в отличие от малоинформативного обозначения в виде порядкового номера по каталогу. Поскольку для конкретной даты обычно выделяется небольшое количество клонов определённого вида, запись неповторима. Сочетание сокращённого названия вида, даты выделения и собственного имени клона образует уникальную комбинацию, благодаря чему в коллекции исключены повторяющиеся наименования. Данная запись не криптоустойчива, поскольку потеря одной или даже двух букв в названии во многих случаях позволяет по журналу (каталогу имеющихся клонов) восстановить исходный вариант. Точка, отделяющая цифру года от цифр месяца, необходима для удобства восприятия записи, так же как и дефис, стоящий за цифрами дня. Короткое собственное имя клона, создаваемое в процессе его выделения, обычно состоит из одной буквы латинского алфавита (в течение дня сложно выделить количество клонов большее, чем число букв латинского алфавита) и является удобным в произношении, при устном общении и обсуждении материала, а также для написания на сосудах при частых пересевах.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Начало содержания культур диатомовых водорослей на Карадагской научной станции связано с именем Л. А. Ланской [4]. Несколько поколений исследователей на протяжении более чем полувека изучали различные аспекты воспроизведения диатомовых, их жизненные циклы, покоящиеся

стадии, влияние факторов среды на рост и ауко-спорообразование [10]. Интересующие исследователей виды водорослей выделяли в культуру из природных проб, чаще всего взятых в окрестностях Карадага. По окончании наблюдений и экспериментов выделенные культуры далее не поддерживали, для следующих исследований брали новые виды.

В последнее десятилетие пришло понимание того, что каждый выделенный клон важен не только для выполнения текущих экспериментов: в дальнейшем он может быть использован и для решения других задач. Изменение отношения к культурам стало формироваться в связи с возникшим интересом к исследованиям в области биогеографии и филогении диатомовых. Потребовалось собрать пробы из многих удалённых друг от друга популяций Евразийского континента и различных морей Мирового океана. Получение проб, выделение клоновых культур, ожидание наступления генеративной фазы, эксперименты по скрещиванию — все эти действия требуют значительного времени и иногда растягиваются на годы. В лабораторной коллекции накапливались культуры разных видов, представленные несколькими популяциями из различных мест. Из каждой популяции по возможности выделяли несколько клоновых культур (штаммов), что обусловлено условиями выполнения экспериментов по скрещиванию и необходимостью проведения молекулярно-генетического анализа. В итоге к настоящему времени в лаборатории водорослей и микробиоты Карадагской научной станции сформирована коллекция живых культур диатомовых водорослей, которая представлена более чем 400 клонами, относящимися к 27 морским и 7 пресноводным видам (табл. 1). Вид *Nitzschia palea* (Kützing) W. Smith нами отнесён к пресноводным, хотя он может выдерживать повышение солёности до 40 ‰.

Диатомовые водоросли распространены очень широко, они обитают во всех морях и океанах, пресных, солоноватоводных, гиперсолёных водоёмах, горячих источниках, в пещерах и в почве. Видовое разнообразие этих одноклеточных организмов поражает: к настоящему времени идентифицировано и описано около 30 тыс. видов, предполагается существование примерно 100 тыс.

видов [20]. Принимая во внимание относительно непродолжительную эволюционную историю (первые диатомовые появились на Земле приблизительно 200–250 млн лет тому назад [23, 24]), можно сказать о том, что столь высокое разнообразие свидетельствует об очевидном успехе Bacillariophyta. Для результативного эволюционного развития группа организмов должна располагать соответствующей генетической основой и иметь эффективный способ её модификации и передачи из поколения в поколение.

Диатомовые возникли в результате симбиогенеза [7], как сейчас принято считать, в два этапа, когда изначально гетеротрофный организм поглотил, но полностью не переварил уже существовавшую к тому времени зелёную водоросль, а затем таким же путём эндосимбиоза в клетку была инкорпорирована одноклеточная красная водоросль [13, 16, 21]. Анализ полных сиквенсов геномов двух видов диатомовых показал, что в них, помимо генов гетеротрофного эукариота и организмов-симбионтов, присутствуют также гены прокариот (цианобактерий, протеобактерий, архей) и простейших, полученные за счёт горизонтального переноса [14]. Обладая столь разнообразным генным запасом, диатомовые демонстрируют ряд уникальных особенностей, состоящих, например, в том, что их биохимическая «машина» поддерживает полный цикл уриновых кислот, что абсолютно нехарактерно для растительных организмов; в отсутствие фотосинтеза диатомовые способны использовать для получения необходимой энергии депонированные масла, которые являются у них основными запасными веществами [14]. Наличие уникальных комбинации генов и метаболических путей позволяет высказать мысль о том, что диатомовые не являются ни растениями, ни животными, по сути реализуя самостоятельную в своём развитии эволюционную линию [14].

Своеобразие диатомовых ярко выражено в их репродуктивных особенностях. Диатомовые водоросли являются диплоидными гапобионтами [15]: в их жизненном цикле доминирует только одна фаза, в которой организм диплоиден, смена поколений отсутствует. Гаплоидная фаза присуща лишь гаметам, образующимся в процессе полового воспроизведения вследствие мейотической

редукции и существующим всего несколько минут или часов до момента слияния и формирования зиготы. Последующая кариогамия восстанавливает диплоидный набор хромосом. Таким образом, по типу жизненного цикла диатомовые схожи и с позвоночными животными, и с некоторыми бурными и зелёными водорослями. Принципиален тот факт, что у большинства видов диатомовых половое воспроизведение является неизменным этапом жизненного цикла. Связано это с хорошо известными особенностями строения и формирования створок панцирей диатомей [22]. Твёрдый кремнеземный панцирь диатомовых состоит из двух половинок: эпитека накрывает гипотеку, подобно тому как крышка — коробку. В результате митотического деления формируются новые теки панциря, которые встраиваются внутри существующих. После деления образуются две клетки, одна из которых имеет первоначальный, а вторая — немного меньший размер, и таким образом в процессе вегетативного деления со временем средний размер клеток в популяции уменьшается вплоть до критических величин. Восстановление исходных, характерных для вида максимальных размеров происходит у диатомовых в ходе процесса ауксоспорообразования (ауксоспоруляции). Образование ауксоспор в подавляющем большинстве случаев сопряжено с половым воспроизведением. Ауксоспора — специфическая клетка, представляющая собой следующий этап развития после зиготы и способная за несколько часов быстро увеличиваться в размерах в несколько раз. После того как ауксоспора достигает максимального размера, внутри неё формируются теки инициальной клетки. Последняя возобновляет вегетативное деление и даёт начало клону новой генерации. Описанная схема изменения размеров диатомовых в жизненном цикле известна как правило МакДональда — Пфитцера [17]. Обязательность полового процесса создаёт условия для генетической рекомбинации, а с учётом того, что большинство видов диатомовых являются раздельнополыми (генетически двудомными) и пол у них детерминирован диплогенотипически [1, 18], в их системах скрещивания доминирует аутбридинг, повышающий генетическое разнообразие.

В целом для диатомовых характерны: а) высокое генетическое разнообразие; б) своеобразие,

выражающееся в уникальных генетических комбинациях; в) специфичность метаболических путей отдельных видов. На самом деле для подтверждения сказанного достаточно сравнить геномы двух видов диатомовых [14] (*Thalassiosira pseudonana* Hasle & Heimdal и *Phaeodactylum tricorutum* Bohlin), эволюционные линии которых разошлись около 90 млн лет тому назад. Их генетические различия сравнимы с различиями между млекопитающими и рыбами, эволюционная дивергенция которых произошла более 550 млн лет тому назад.

Мы вынуждены констатировать низкую представленность Bacillariophyta в коллекциях микроводорослей, несоизмеримую с их видовым богатством. Так, в коллекции Института физиологии растений им. К. А. Тимирязева РАН, которая имеет международный статус (шифр IPPAS) и является одной из крупнейших коллекций микроводорослей в России, диатомовые не содержатся вообще [25]. В каталог Всероссийской коллекции микроорганизмов [26] диатомовые водоросли не включены, хотя отмечены в списке коллекций. В коллекциях, включающих культуры диатомовых, количество поддерживаемых штаммов, как правило, не превышает одного-двух десятков. Например, в коллекции культур микроводорослей Института биологии южных морей (ныне Институт морских биологических исследований им. А. О. Ковалевского РАН) в 2008 г. содержалось 15 видов диатомовых, преимущественно из планктона Чёрного моря [9]; в наши дни ситуация осталась прежней. В коллекции культур морских микроводорослей Института биологии моря им. А. В. Жирмунского ДВО РАН в 2011 г. имелось 13 видов (18 штаммов) диатомовых [8]. В коллекции водорослей и протистов (Culture Collection of Algae and Protozoa, CCAP; Scotland, UK) 12 родов диатомовых представлены 19 штаммами, хотя вся коллекция насчитывает более 1300 штаммов [28]. В крупнейшей в мире коллекции морских водорослей NCMA (ранее CCMR) Национального центра морских водорослей и микробиоты США (National Center for Marine Algae and Microbiota) к настоящему времени диатомовые представлены всего 162 штаммами из 22 идентифицированных родов [27]. Хранящихся в живых культурах, а не в состоянии глубокой замороз-

ки штаммов диатомовых насчитывается 18, причём определённых до вида — всего 5.

Любопытны результаты анализа количества видов водорослей, представленных в мировых коллекциях живых культур согласно базе данных WDCM CCINFO [6]. По данным авторов анализа, в 12 крупнейших коллекциях мира содержится в совокупности 61 вид диатомовых (в то время как зелёные водоросли представлены 1404 видами). Если сравнить представленность видов диатомовых в культурах с их видовым богатством в природе, можно насчитать всего 0.5 % от общего количества известных видов, несмотря на то, что эта группа отличается наибольшим видовым разнообразием и доминирует в большинстве природных местообитаний водорослей. Заметим, что авторы в своей оценке используют заниженные данные об общем количестве известных видов диатомовых (примерно 12 тыс.).

На фоне известных коллекций коллекция диатомовых на Карадагской научной станции положительно выделяется количеством содержащихся в ней видов и клонов, а также тем, что все культуры поддерживаются в живом виде, в фазе активного роста. В коллекции содержатся преимущественно бентосные диатомовые, как правило, относящиеся к пеннатным. Одним из важнейших преимуществ коллекции КНС является то, что для большинства клонов выявлена система скрещивания вида, изучен его жизненный цикл, установлена половая принадлежность (скрещивающийся тип) клонов. Помимо нашей коллекции, такие данные в отношении диатомовых не предоставляет ни одна в мире, за исключением коллекции диатомовых университета г. Гент (Ghent, Belgium) [29].

Коллекция Карадагской научной станции служит для выполнения НИР, ориентированных, прежде всего, на изучение полового воспроизведения и жизненных циклов диатомовых. Однако с учётом многоплановой значимости диатомовых водорослей наша коллекция имеет гораздо больший потенциал ввиду возможного практического применения в биотехнологиях, а именно:

- производства биотоплива из водорослей (в этом отношении диатомовые особенно ценны, т. к. способны накапливать липиды в большом количестве — до половины массы клетки);

- получения промышленных ферментов, биопрепаратов, кормов для животных;
- получения биологически активных и новых веществ для производства косметических и фармакологических средств;
- рекультивации при помощи водорослей сточных и промышленных вод;
- поглощения избыточного количества углекислого газа, выделяемого производствами.

При этом следует ещё раз подчеркнуть, что первыми шагами на пути освоения потенциала, заложенного в водорослях, являются выделение из природы отдельных штаммов и создание коллекции культур.

Исследования выполняются в рамках НИ-ОКТР «Изучение жизненных циклов и систем воспроизведения диатомовых водорослей» (АААА-А16-116022510089-9).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Давидович Н. А. Наследование пола при внутрикловом воспроизведении облигатно двудомного вида *Nitzschia longissima* (Bréb.) Ralfs (Bacillariophyta) // *Альгология*. 2005. Т. 15, № 4. С. 385–398. [Davidovich N. A. Sex inheritance during intracloal reproduction in the obligatory dioecious species *Nitzschia longissima* (Bréb.) Ralfs (Bacillariophyta). *Al'gologiya*, 2005, vol. 15, no. 4, pp. 385–398. (in Russ.)].
2. Давидович Н. А., Давидович О. И. Использование среды ESAW в опытах по изучению полового воспроизведения диатомовых водорослей // *Карадаг - 2009. Сборник трудов, посвященный 95-летию Карадагской научной станции и 30-летию Карадагского природного заповедника Национальной академии наук Украины* / ред. А. В. Гаевская, А. Л. Морозова. — Севастополь : ЭКОСИ-Гидрофизика, 2009. С. 538–544. [Davidovich N. A., Davidovich O. I. Ispol'zovanie sredy ESAW v opytah po izucheniyu polovogo vosproizvedeniya diatomovykh vodoroslej. In: *Karadag - 2009. Sbornik trudov, posvyashchennyj 95-letiyu Karadagской nauchnoj stantsii i 30-letiyu Karadagского prirodnogo zapovednika Natsional'noj akademii nauk Ukrainy* / A. V. Gaevsкая, A. L. Morozova (Eds.). —
3. Давидович Н. А., Давидович О. И., Подунай Ю. А., Шоренко К. И., Куликовский М. С. Репродуктивные особенности диатомовых водорослей: значение для культивирования и биотехнологии // *Физиология растений*. 2015. Т. 62, № 2. С. 167–175. [Davidovich N. A., Davidovich O. I., Podunaj Yu. A., Shorenko K. I., Kulikovskij M. S. Reproductive properties of diatoms significant for their cultivation and biotechnology. *Fiziologiya rastenij*, 2015, vol. 62, no. 2, pp. 167–175. (in Russ.)].
4. Давидович Н. А., Шоренко К. И., Давидович О. И., Подунай Ю. А. Исторический очерк и перспектива изучения диатомовых водорослей (Bacillariophyta) на Карадаге // *100 лет Карадагской научной станции им. Т. И. Вяземского: сборник научных трудов* / ред. А. В. Гаевская, А. Л. Морозова. Симферополь: Н. Орианда, 2015. С. 441–450. [Davidovich N. A., Shorenko K. I., Davidovich O. I., Podunaj Yu. A. Istoricheskij ocherk i perspektiva izucheniya diatomovykh vodoroslej (Bacillariophyta) na Karadage. In: *100 let Karadagской nauchnoj stantsii im. T. I. Vyazemского: sbornik nauchnyh trudov* / A. V. Gaevsкая, A. L. Morozova (Eds.). Simferopol: N. Orianda, 2015, pp. 441–450. (in Russ.)].
5. Жузе А. П., Прошкина-Лавренко А. И., Шешукова В. С. Диатомовый анализ. Кн. 1 / ред. А. И. Прошкина-Лавренко. Москва; Ленинград: Гос. изд-во геол. лит-ры, 1949. 239 с. [Zpuze A. P., Proshkina-Lavrenko A. I., Speshukova V. S. Diatomovuj analiz. Kn. 1 / A. I. Proshkina-Lavrenko (Ed.). Moscow; Leningrad: Gos. izd-vo geol. lit-ry, 1949, 239 p. (in Russ.)].
6. Комаристая В. П., Горбулин О. С., Догадина Т. В. Водоросли в базе данных мировых коллекций живых культур WDCM CCINFO // *Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія: Біологія*. 2015. Вып. 25. С. 57–63. [Komaristaya V. P., Gorbulin O. S., Dogadina T. V. Vodorosli v baze dannyh mirovykh kollektzij zhivykh

- kul'tur WDCM CCINFO. *Visnik Harkivs'kogo natsional'nogo universitetu imeni V. N. Karazina. Seriya: Biologiya*, 2015, iss. 25, pp. 57–63. (in Russ.).
7. Мережковский К. С. *Теория двух плазм, как основа симбиогенеза, нового учения о происхождении организмов*. Казань: Типо-литография Имп. Ун-та, 1909. 97 с. [Merezhkovskij K. S. *Teoriya dvuh plazm, kak osnova simbiogeneza, novogo ucheniya o proishozhdenii organizmov*. Kazan: Tipo-litografiya Imp. Univ., 1909, 97 p. (in Russ.)].
 8. Орлова Т. Ю., Айздайчер Н. А., Стоник И. В. *Лабораторное культивирование морских микроводорослей, включая продуцентов фитотоксинов: научно-методическое пособие*. Владивосток: Дальнаука, 2011. 89 с. [Orlova T. Yu., Ajzdajcher N. A., Stonik I. V. *Laboratornoe kul'tivirovanie morskikh mikrovodoroslej, vklyuchaya producentov fitotoksinov: nauchno-metodicheskoe posobie*. Vladivostok: Dal'nauka, 2011, 89 p. (in Russ.)].
 9. Стельмах Л. В. Создание и сохранение // *Микроводоросли Чёрного моря: проблемы сохранения биоразнообразия и биотехнологического использования* / ред. Ю. Н. Токарев, З. З. Финенко, Н. В. Шадрин; НАН Украины, Институт биологии южных морей. Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2008. С. 201–202. [Stel'mah L. V. *Sozdanie i sohranenie*. In: *Mikrovodorosli Chernogo morya: problemy sohraneniya bioraznoobraziya i biotekhnologicheskogo ispol'zovaniya* / Yu. N. Tokarev, Z. Z. Finenko, N. V. Shadrin (Eds.); NAN Ukrainy, Institut biologii yuzhnyh morej. Sevastopol: EKOSI-Gidrofizika, 2008, pp. 201–202. (in Russ.)].
 10. Чепурнов В. А., Манн Д. Д. Изучение жизненных циклов и репродуктивного поведения диатомовых водорослей в Карадагском природном заповеднике: история вопроса, результаты и перспективы // *Карадаг. История, биология, археология: сборник научных трудов, посвященный 85-летию Карадагской биологической станции им. Т. И. Вяземского*. Симферополь: Сонат, 2001. С. 159–175. [Chepurnov V. A., Mann D. D. *Izuchenie zhiznennyh tsiklov i reproduktivnogo povedeniya diatomovykh vodoroslej v Karadagskom prirodnom zapovednike: istoriya voprosa, rezul'taty i perspektivy*. In: *Karadag. Istoriya, biologiya, arheologiya: Sbornik nauchnykh trudov, posvyashchennyj 85-letiyu Karadagskoj biologicheskoy stantsii im. T. I. Vyazemskogo*. Simferopol: Sonat, 2001, pp. 159–175. (in Russ.)].
 11. Andersen R. A., Berges J. A., Harrison P. J., Watanabe M. M. Recipes for freshwater and seawater media. In: *Algal culturing techniques* / R. A. Andersen (Ed.). Elsevier Academic Press, 2005, pp. 429–538.
 12. Andersen, R. A., Kawachi, M. Traditional microalgae isolation techniques. In: *Algal culturing techniques* / R. A. Andersen (Ed.). Elsevier Academic Press, 2005, pp. 83–100.
 13. Archibald J. M. The puzzle of plastid evolution. *Current Biology*, 2009, vol. 19, pp. R81–R88.
 14. Armbrust E. V. The life of diatoms in the world's oceans. *Nature*, 2009, vol. 459, pp. 185–192.
 15. Bold H. C., Wynne M. J. *Introduction to the Algae. Structure and Reproduction*. Englewood Cliffs: Prentice-Hall Inc., 1985, 662 p.
 16. Bowler C., Allen A. E., Badger J. H., Grimwood J., Jabbari K., Kuo A., Maheswari U., Martens C., Maumus F., Otilar R. P., Rayko E., Salamov A., Vandepoele K., Beszteri B., Gruber A., Heijde M., Katinka M., Mock T., Valentin K., Verret F., Berges J. A., Brownlee C., Cadoret J.-P., Chiovitti A., Choi C. J., Coesel S., de Martino A., Detter J. C., Durkin C., Falciatore A., Fournet J., Haruta M., Huysman M. J. J., Jenkins B. D., Jiroutova K., Jorgensen R. E., Joubert Y., Kaplan A., Kröger N., Kroth P. G., la Roche J., Lindquist E., Lommer M., Martin-Jézéquel V., Lopez P. J., Lucas S., Mangogna M., McGinnis K., Medlin L. K., Montsant A., Oudot-Le Secq M.-P., Napoli C., Obornik M., Schnitzler-Parker M., Petit J.-L., Porcel B. M., Poulsen N., Robison M., Rychlewski L., Rynearson T. A., Schmutz J., Shapiro H., Siatu M., Stanley M., Sussman M. R., Taylor A. R., Vardi A., von Dassow P., Vyverman W., Willis A., Wyrwicz L. S., Rokhsar D. S., Weissenbach J., Armbrust E. V., Green B. R., van de Peer Y.,

- Grigoriev I. V. The Phaeodactylum genome reveals the evolutionary history of diatom genomes. *Nature*, 2008, vol. 456, pp. 239–244.
17. Chepurnov V. A., Mann D. G., Sabbe K., Vyverman W. Experimental studies on sexual reproduction in diatoms. *International Review of Cytology*, 2004, vol. 237, pp. 91–154.
18. Gastineau R., Davidovich N. A., Hallegraeff G. M., Prober I., Mouget J.-L. Reproduction in Microalgae. In: *Reproductive Biology of Plants* / Ramawat, K. G., Mérillon, J. M., Shivanna, K. R. (Eds.). CRC Press, 2014, pp. 1–28.
19. Mann D. G., Chepurnov V. A. What have the Romans ever done for us? The past and future contribution of culture studies to diatom systematics. *Nova Hedwigia*, 2004, vol. 79, pp. 237–291.
20. Mann D. G., Vanormelingen P. An inordinate fondness? The number, distributions and origins of diatom species. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 2013, vol. 60, pp. 414–420.
21. Moustafa A., Beszteri B., Maier U. G., Bowler C., Valentin K., Bhattacharya D. Genomic footprints of a cryptic plastid endosymbiosis in diatoms. *Science*, 2009, vol. 324, pp. 1724–1726.
22. Round F. E., Crawford R. M., Mann D. G. *The Diatoms. Biology and Morphology of the Genera*. Cambridge: Cambridge University Press, 1990, 747 p.
23. Sims P. A., Mann D. G., Medlin L. K. Evolution of the diatoms: insights from fossil, biological and molecular data. *Phycologia*, 2006, vol. 45, iss. 4, pp. 361–402.
24. Sorhannus U. A nuclear-encoded small-subunit ribosomal RNA timescale for diatom evolution. *Marine Micropaleontology*, 2007, vol. 65, pp. 1–12.
25. [Коллекция микроводорослей IPPAS] [Электронный ресурс]. Режим доступа: collection.cellreg.org/index.php (Дата обращения 20.10.2016) [Kolleksiya mikrovodoroslei IPPAS [Electronic resource]. Available at: collection.cellreg.org/index.php (accessed 20.10.2016) (in Russ.)].
26. Генетические и биологические (зоологические и ботанические) коллекции РФ. Коллекции микроорганизмов [Электронный ресурс]. Режим доступа: www.sevin.ru/collections/microorganisms.html (Дата обращения 20.10.2016). [Geneticheskie i biologicheskie (zoologicheskie i botanicheskie) kolleksii RF. Kolleksiya mikroorganizmov [Electronic resource]. Available at: www.sevin.ru/collections/microorganisms.html (accessed 20.10.2016) (in Russ.)].
27. Bigelow: National Center for Marine Algae and Microbiota [Electronic resource]. Available at: ncma.bigelow.org/products/algae/algae-class-bacillariophyceae (accessed 20.10.2016).
28. Culture Collection of Algae and Protozoa [Electronic resource]. Available at: www.ccap.ac.uk/advanced-search.php?mode=taxo (accessed 28.11.2016).
29. Vanormelingen P., Detongre O., Chepurnova O., Vyverman W. BCCM/DCG, a new and dedicated diatom culture collection integrated in the belgian coordinated collections of microorganisms // *Twentysecond International Diatom Symposium*. Aula Academica, Ghent, 26-31 Aug. 2012: Abstracts / Sabbe Koen, Van de Vijver Bart, Vyverman Wim (Eds). VLIZ Special Publication, 2012, vol. 58, p. 239.

Таблица 1. Виды диатомовых в коллекции лаборатории водорослей и микробиоты Карадагской научной станции (октябрь 2016 года)**Table 1.** Diatom species in the collection of the algae and microbiota laboratory of Karadag Scientific Station (October 2016)

п/п	Вид	Регион отбора проб	К-во клонов
М о р с к и е			
1	<i>Ardissonea crystallina</i> (C. Agardh) Grunow	Атлантический океан, Чёрное море, г. Севастополь	38
		Атлантический океан, Чёрное море, Карадаг	13
2	<i>Climaconeis scalaris</i> (Brébisson) E. J. Cox	Атлантический океан, Чёрное море, Карадаг	36
3	<i>Climaconeis</i> sp.	Тихий океан, г. Окланд	8
4	<i>Coscinodiscus</i> sp. 1	Атлантический океан, Адриатическое море, Черногория	1
5	<i>Coscinodiscus</i> sp. 2	Атлантический океан, Чёрное море, Карадаг	2
6	<i>Coscinodiscus</i> sp. 3	Тихий океан, Охотское море	1
7	<i>Dimeregramma</i> sp.	Атлантический океан, Южная Африка	6
8	<i>Halamphora</i> sp.	Тихий океан, Южно-Китайское море	2
9	<i>Haslea karadagensis</i> Davidovich, Gastineau & Mouget	Атлантический океан, Чёрное море, Карадаг	15
10	<i>Haslea ostrearia</i> (Gaillon) Simonsen	Атлантический океан, Бискайский залив	1
11	<i>Haslea provincialis</i> Gastineau, Hansen & Mouget	Атлантический океан, Адриатическое море	2
12	<i>Haslea silbo</i> ad int.	Атлантический океан, Тирренское море, Неаполитанский залив	6
13	<i>Nitzschia longissima</i> (Brébisson) Grunow	Атлантический океан, Бискайский залив	1
		Атлантический океан, Чёрное море, Карадаг	1
14	<i>Nitzschia rectilonga</i> Takano	Атлантический океан, Мексиканский залив	16
		Атлантический океан, Бискайский залив	2
		Атлантический океан, Чёрное море, Карадаг	1
		Индийский океан, Красное море	3
		Индийский океан, Персидский залив	10
15	<i>Nitzschia ventricosa</i> Kitton	Атлантический океан, Мексиканский залив	2
		Атлантический океан, Карибское море, о. Мартиника	5
		Атлантический океан, Канарские о-ва, о. Ля Гомера	7
		Атлантический океан, Канарские о-ва, о. Ля Пальма	1
16	<i>Nitzschia</i> sp. 1	Тихий океан, Восточно-Китайское море	13
17	<i>Nitzschia</i> sp. 2	Атлантический океан, Чёрное море, Карадаг	9
18	<i>Nitzschia</i> sp. 3	Индийский океан, Бенгальский залив, Мьянма	3
		Атлантический океан, Чёрное море, Карадаг	3
19	<i>Nitzschia tenuirostris</i> Mer.	Атлантический океан, Чёрное море, б. Ласпи	5
20	<i>Paralia</i> sp.	Тихий океан, Южно-Китайское море	1
		Атлантический океан, Чёрное море, Карадаг	4

Продолжение на следующей странице. Continued on the next page.

п/п	Вид	Регион отбора проб	К-во клонов
21	<i>Pleurosigma</i> sp.	Атлантический океан, Южная Каролина, США	7
22	<i>Schizostauron</i> sp. 1	Индийский океан, о. Мадагаскар	1
23	<i>Schizostauron</i> sp. 2	Индийский океан, Юго-Восточная Африка	5
24	<i>Schizostauron</i> sp. 3	Индийский океан, Красное море	9
25	<i>Tabularia fasciculata</i> (C. Agardh) D. M. Williams & Round	Чёрное море, Карадаг	2
26	<i>Tabularia</i> cf. <i>fasciculata</i>	Тихий океан, Дальний Восток	4
27	<i>Tabularia tabulata</i> (C. Agardh) Snoeijis	Чёрное море, г. Керчь	1
Всего:			247
П р е с н о в о д н ы е			
1	<i>Asterionella formosa</i> Hassall	Россия, оз. Телецкое	4
2	<i>Eunotia</i> sp.	Южная Каролина, США	6
3	<i>Hantzschia amphioxys</i> (Ehrenberg) Grunow	Россия, преимущественно Центральный федеральный округ	14
4	<i>Nitzschia palea</i> (Kützing) W. Smith	Россия, г. Уфа	3
5	<i>Tabellaria</i> sp.	Россия, оз. Фролиха/Байкал	28
		Монголия, оз. Хубсугул	4
6	<i>Ulnaria acus</i> (Kützing) M. Aboal	Россия, оз. Рица	6
		Россия, оз. Телецкое	4
		Россия, оз. Байкал	8
		Монголия, оз. Хубсугул	4
		Индонезия, оз. Матано	4
7	<i>Ulnaria ulna</i> (Nitzsch) P. Compère	Бельгия, г. Гент	4
		Великобритания, Уэльс, г. Кардифф	4
		Франция, г. Ле-Ман	4
		Украина, р. Днепр, г. Киев	2
		Россия, Крым	32
		Россия, оз. Рица	4
		Россия, р. Москва, г. Звенигород	4
		Россия, р. Адуй	7
		Россия, р. Бия	6
		Россия, р. Обь	4
		Россия, оз. Телецкое	5
		Россия, оз. Фролиха/Байкал	2
		Россия, г. Владивосток	8
Монголия, оз. Хубсугул	8		
Индонезия	12		
Всего:			191

The diatom culture collection at Karadag Scientific Station (Crimea)

N. A. Davidovich, O. I. Davidovich, Yu. A. Podunay

T. I. Vyazemsky Karadag Scientific Station — Nature Reserve RAS, Feodosia, Russian Federation

E-mail: karadag-algae@yandex.ru

Diatoms, the essential member of the global biosphere, are represented by 30 000 known species and presumably can include about 100 000 species. These microalgae have evolved unique set of genes, pathways of biosynthesis, and physiological properties. This rich genetic and production potential is inadequately used because the biology and life cycles of these microalgae are vaguely known, their presence as living organisms in culture collections of any country is very limited and the experience in diatom clone/strain isolation and culture maintenance — in deficiency. Formation of a collection of diatom cultures is the first step to practical uses of the rich genetic and metabolic material. The sensitivity of diatoms to environmental/medium quality and to metabolites (autoinhibition) makes the task uneasy. At Karadag Scientific Station, Crimea for more than four decades the studies have been performed and the experience in clonal culture isolation and maintenance accumulated. The resulting working collection includes over 400 clones of 27 marine and 7 freshwater species. Samples of marine diatoms were gathered in the Black Sea and over the World Ocean, and the freshwater microalgae — over Eurasian regions. The cultures are kept in liquid media and regularly reinoculated. Work with the collection is required when studying reproduction characteristics, species biogeography and intraspecific variations in diatoms, and can be of interest for biotechnologies exploring practical application of diatoms. The diatom collection at Karadag Scientific Station, its value and applications are discussed and compared with some world-known microalgal collections.

Keywords: diatoms, culture collection, clones, liquid culture media, Karadag Scientific Station, Crimea