УДК 591.1.05+592/595

# ВОЗДЕЙСТВИЕ ЭНДОФИТА *LAMINARIOCOLAX AECIDIOIDES* (ROSENVINGE) A.F. PETERS, 1998 (PHAEOPHYCEAE: ECTOCARPALES) НА ЛИПИДНЫЙ СОСТАВ БУРОЙ ВОДОРОСЛИ *UNDARIA PINNATIFIDA* (HARVEY) SURINGAR, 1873 (PHAEOPHYCEAE: LAMINARIALES)

# © 2022 г. О. А. Чадова<sup>1</sup>, П. В. Веланский<sup>1, \*</sup>

<sup>1</sup>Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, Владивосток 690041, Россия

\**e-mail: velansky.pv@gmail.com* Поступила в редакцию 08.11.2021 г. После доработки 10.02.2022 г. Принята к публикации 24.03.2022 г.

Исследован состав классов полярных липидов, а также состав жирных кислот фракций нейтральных и полярных липидов в тканях бурой водоросли *Undaria pinnatifida* при инфицировании эндофитом *Laminariocolax aecidioides*. Впервые в бурых водорослях обнаружен липид глюкуронозилдиацилглицерин, а в водорослях порядка Laminariales также впервые найдены церамидфосфоинозит, диацилглицерилтриметилгомосерин и диацилглицерилгидроксиметилтриметилаланин в значимых количествах. Установлено, что наличие эндофита приводит к снижению содержания фосфатидил-инозита и церамидфосфоинозита, к существенному повышению концентрации насыщенных жирных кислот и к снижению содержания  $\omega$ 3 полиненасыщенных кислот в нейтральных липидах.

*Ключевые слова:* эндофит, липиды, жирные кислоты, бурые водоросли **DOI:** 10.31857/S0134347522040039

Однолетняя бурая водоросль Undaria pinnatifida (Harvey) Suringar, 1873 произрастает в сублиторальной зоне на глубине от 1 до 15 м. Популяции U. pinnatifida обнаружены у берегов Японии, Китая, Кореи, Франции, Новой Зеландии, Тасмании, Аргентины, Англии и южной Австралии, а также на Нормандских островах (Stuart et al., 1999; Pereira, Yarish, 2008). В российских водах U. pinnatifida была обнаружена в зал. Петра Великого Японского моря (Skriptsova et al., 2004). Благодаря высокому содержанию биологически активных веществ эта водоросль представляет большой интерес для биомедицины и фармацевтики (Cho et al., 2007; Hayashi et al., 2008; Shibata et al., 2008; Faggio et al., 2015). Высокая концентрация эссенциальных полиненасыщенных жирных кислот позволяет рассматривать U. pinnatifida в качестве потенциально важного источника липидов (Tabakaeva, Tabakaev, 2017).

В естественных условиях спорофиты U. pinnatifida часто инфицируются эндофитом — бурой водорослью Laminariocolax aecidioides (Rosenvinge) A.F. Peters, 1998 (Ectocarpales: Phaeophyceae) (см.: Gauna et al., 2009; Skriptsova, Kalita, 2020). Немногочисленные исследования показали, что заражение этим эндофитом не влияет на репродуктивный потенциал и развитие U. pinnatifida. Однако из-за образования перфораций в тканях инфицированные макрофиты могут подвергаться вторичному заражению бактериальными или другими инфекциями, что может быть причиной гибели водоросли (Campo et al., 1998). Эпифитизм культивируемых водорослей является серьезной проблемой, приводящей к снижению количества и качества продукции (Titlyanov, Titlyanova, 2010).

Комплексные исследования эндофитов бурых водорослей крайне скудны. Отсутствует информация о биохимическом, в частности липидном, составе, а также о взаимном воздействии эндофита и хозяина. Настоящая работа посвящена изучению влияния эндофита *L. aecidioides* на липидный состав макрофита-хозяина *U. pinnatifida*.

# МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Образцы водорослей были собраны в ноябре 2020 г. в б. Соболь (зал. Петра Великого, Японское море) при температуре воды 5°С. Отбирали по три инфицированных и неинфицированных экземпляра *Undaria pinnatifida*; у каждого брали образцы ткани (масса 0.2–0.5 г) нижней части пластины, а также интактных участков верхней части пластины и хорошо различимых пораженных пигментированных участков у инфициро-



**Рис. 1.** Разделение классов полярных липидов методом ВЭЖХ-МС/МС в липидном экстракте верхней части пластины инфицированной особи *Undaria pinnatifida*. Представлено наложение хроматограмм специфических реакций фрагментации для каждого класса. Для выравнивания интенсивности хроматограммы приведены в разном масштабе.

ванных водорослей. Кусочки ткани быстро сушили при помощи фильтровальной бумаги, взвешивали и гомогенизировали в 5 мл смеси хлороформ : метанол (1 : 1 по объему). К гомогенату добавляли 1 мл воды, тщательно перемешивали и центрифугировали в течение 5 мин при 5000 об/мин. Нижний слой отбирали, упаривали до постоянной массы и перерастворяли в хлороформе.

Липидный экстракт разделяли на фракции полярных и нейтральных липидов на колонке с силикагелем (100-160 мкм) диаметром 1 см и высотой 3 см. На колонку наносили 100 мкл экстракта (концентрация 10 мг/мл); нейтральные липиды элюировали чистым хлороформом, полярные смесью метанол : вода (40 : 1) (3 раза по 1 мл каждым элюентом). Метиловые эфиры жирных кислот получали гидролизом липидных фракций в метаноле с 2% серной кислотой при температуре 90°С в течение 1 ч. Анализ метиловых эфиров жирных кислот проводили на газовом хроматографе Shimadzu GC-2010 с пламенно-ионизационным детектором на колонке Supelcowax-10 30 м × 0.25 мм (Supelco, USA) в изотермическом режиме при температуре 200°С. Метиловые эфиры ЖК идентифицировали путем расчёта эквивалентной длины цепи (Jamieson, 1975).

Классы полярных липидов анализировали при помощи высокоэффективной жидкостной хроматографии на колонке Ascentis Si 25 см  $\times$  2.1 мм (Supelco, USA) в режиме гидрофильной хроматографии (рис. 1). В качестве элюентов использовали следующие составы: А – ацетонитрил + 50 мМ муравьиной кислоты и В – ацетонитрил : вода (1 : 1 по объему) + 100 мМ муравьиной кислоты + 40 мМ аммиака. Элюирование градиентное, по следующей программе: старт (2% В, суммарный поток 0.2 мл/мин), 2.5 мин (24% В), 3 мин (снижение потока с 0.2 до 0.15 мл/мин), 5 мин (26% В), 10 мин (40% В), 15 мин (100% В), 19 мин (повышение потока с 0.15 до 0.3 мл/мин), 21 мин (снижение концентрации с 100 до 2% В), 24 мин (снижение потока с 0.3 до 0.2 мл/мин) и 26 мин (стоп).

Классы полярных липидов детектировали при помощи масс-спектрометра с тройным квадруполем Shimadzu LCMS-8060 с ионизацией распылением в электростатическом поле. Параметры ионизатора: поток газа-испарителя (азот) – 3 л/мин, осушающего газа (азот) – 10 л/мин, вспомогательного газа прогрева (воздух) – 10 л/мин; температура капилляра испарения – 300°С, линии десольватации – 250°C, нагревательного блока – 400°C. Каждый липидный класс детектировали по специфичной для него реакции фрагментации, заключающейся в потере определенного нейтрального фрагмента или образовании дочернего иона (табл. 1). При этом скорость сканирования первого квадруполя составляла 3000 а. е./с, а время полного цикла фрагментации всех классов липидов составляло 2 с. Для идентификации, оптимизации параметров фрагментации и построения калибровочных графиков использовали стандарты соответствующих липидов от Avanti Polar Lipids (USA). Ввиду отсутствия стандартов для глюкуронозилдиацилглицерина (ГКДГ), диацилглицерилгидроксиметилтриметилаланина (ДГТА) и фосфатидилгидроксиэтилглицина (ФГЭГ) при расчете содержания липидов этих классов применяли калибровочные данные для сульфохиновозилдиацилглицерина (СХДГ), диацилглицерилтриметилгомосерина (ДГТС) и фосфатидилсерина соответственно. Идентифицировали ГКДГ (Okazaki et al., 2013), ДГТА (Li et al., 2017), ФГЭГ и церамидфосфоинозит (ЦФИ) (см.: Vyssotski et al., 2017) на основе опубликованных ранее механизмов фрагментации. Масс-спектры распада и механизм фрагментации ГКДГ – липида, впервые об-

# ЧАДОВА, ВЕЛАНСКИЙ

Липид	Ион-прекурсор	Тип регистрируемой реакции	Масса фрагмента	Энергия фрагментации, <i>eV</i>	
МГДГ	$[M + NH_4]^+$	Потеря фрагмента	179.1	18	
ГКДГ	$[M + NH_4]^+$	Потеря фрагмента	211.1	22	
СХДГ	$[M + NH_4]^+$	Потеря фрагмента	261.1	32	
ДГДГ	$[M + NH_4]^+$	Потеря фрагмента	341.1	21	
ΦΓ	$[M + NH_4]^+$	Потеря фрагмента	189.0	25	
ФИ, ЦФИ	$[M-H]^{-}$	Дочерний ион	241.0	44	
ФЭ	$[M + H]^{+}$	Потеря фрагмента	141.0	24	
ДГТС, ДГТА	$[M + H]^{+}$	Дочерний ион	236.1	50	
ΦΓЭΓ	$[M + H]^{+}$	Потеря фрагмента	199.0	26	
ФХ	$[M + H]^{+}$	Дочерний ион	184.0	33	

Таблица 1. Параметры фрагментации, использованные при детектировании классов полярных липидов

Примечание. Список сокращений названий классов полярных липидов см. в тексте.

наруженного в водорослях-макрофитах, приведены на рис. 2.

Статистическую обработку проводили в программе Microsoft Excel, для оценки достоверности изменений использовали критерий Стьюдента. Достоверными считали изменения с уровнем значимости p < 0.05.

# РЕЗУЛЬТАТЫ

#### Состав полярных липидов

Проведенный анализ позволил обнаружить в тканях Undaria pinnatifida гликолипиды моногалактозилдиацилглицерин (МГДГ), дигалактозилдиацилглицерин (ДГДГ), СХДГ и ГКДГ; фосфолипиды фосфатидилхолин (ФХ), фосфатидилэтаноламин (ФЭ), фосфатидилинозит (ФИ), церамидфосфоинозит (ЦФИ), фосфатидилглицерин (ФГ) и ФГЭГ, а также бетаиновые липиды ДГТС и ДГТА (табл. 2). Содержание МГДГ (25.7–28.7%) и СХДГ (9.7–11.1%) оставалось на одном уровне во всех исследованных тканях. Содержание ДГДГ в нижней части пластины было заметно ниже, чем в верхней (14.7–16.8% против 20.9–23.3%).

Содержание большинства фосфолипидов *U. pinnatifida* также практически не изменилось и составляло:  $\Phi\Gamma - 10.4-14.2\%$ ,  $\Phi\Im - 9.1-10.9\%$ ,  $\Phi X - 7.5-10.3\%$  и  $\Phi\Gamma\Im\Gamma - 2.5-3.5\%$ . Повышенное количество  $\Phi\Gamma$  выявлено в нижних частях пластин инфицированных растений (14.2% против 10.3–11.1% в остальных участках пластин), повышенный уровень  $\Phi X - в$  нижних частях неинфицированных растений (10.3% против 7.5% в инфицированных). Содержание фосфолипидов с инозитом в составе полярной группы (ФИ и ЦФИ) в верхней части пластины инфицированных водорослей было ниже, чем у незараженных растений, причем и в ткани, имеющей явные признаки наличия эндофита (Вэ), и в прилегающей ткани (Ви). Так, содержание ФИ снижалось с 3.7 до 2.5–2.6%, а ЦФИ – с 2.1 до 1.0%. В нижней части пластин инфицированных растений содержание ФИ тоже было ниже: 3.5% против 4.2% у неинфицированных.

Содержание бетаиновых липидов ДГТС и ДГТА (1.5–3.2%) и гликолипида ГКДГ (0.5–1.3%) не имело корреляций с наличием эндофита.

Следует отметить, что не было обнаружено значимых количеств лизолипидов, кроме следов лизо-МГДГ в некоторых образцах.

### Состав жирных кислот

Главными жирными кислотами *U. pinnatifida* являлись 16:0, 18:0, 18:2n-6, 18:1n-9, 18:3n-3, 18:4n-3, 20:4n-6 и 20:5n-3, при этом во фракции полярных липидов было существенно выше содержание полиненасыщенных ЖК (табл. 3). У неинфицированных особей отмечен более высокий уровень эйкозапентаеновой кислоты в верхних частях пластин.

В ткани водоросли с явным наличием эндофита (Вэ) наблюдалось значительное изменение в составе жирных кислот как полярных, так и нейтральных липидов, которое выражалось в повышении концентрации насыщенных (16:0 и 18:0) и снижении уровня полиненасыщенных ЖК  $\omega$ 3 ряда 18:3n-3, 18:4n-3, 20:5n-3 (рис. 3). При этом такие изменения жирных кислот полярных липидов выявлены лишь в той части пластины, где на-



**Рис. 2.** Масс-спектр фрагментации ГКДГ 14:0/18:2, ион-прекурсор [М–Н]<sup>-</sup>, 739.5 *m/z* (а), схема фрагментации ГКДГ (б) и специфическая фрагментация, используемая для идентификации класса ГКДГ в режиме регистрации положительных ионов (в).

личие эндофита определялось визуально, а в нейтральных липидах данный эффект проявлялся во всех частях пластины.

# ОБСУЖДЕНИЕ

Гликолипиды наряду с ФГ составляют основу мембран хлоропластов и являются главными полярными липидами водорослей, поэтому для интенсивно фотосинтезирующих тканей характерен высокий уровень содержания пластидных полярных липидов. В результате исследования, проведенного ранее на бурой водоросли Saccharina japonica из порядка Laminariales, выявлено повышенное содержание ДГДГ и СХДГ в старых частях таллома, что можно объяснить более интенсивным, чем в молодых тканях, фотосинтезом (Khotimchenko, Kulikova, 2000). Пластина U. pinnatifida pactet за счет расположенной в ее основании интеркалярной меристемы, поэтому верхняя часть пластины представлена более старой тканью с активным фотосинтезом и, соответственно, с более высоким уровнем ДГДГ. Повышенное

БИОЛОГИЯ МОРЯ том 48 № 5 2022

содержание эйкозапентаеновой кислоты в верхней части пластины также можно объяснить более интенсивным фотосинтезом и синтезом ЖК *de novo*. В работе на *Laminaria japonica* была выявлена и более общая закономерность — повышение соотношения  $\omega 3/\omega 6$  ЖК в верхних частях таллома (Khotimchenko, Kulikova, 2000).

Ранее ГКДГ в водорослях-макрофитах не был обнаружен. Его наличие показано в высших растениях (Okazaki et al., 2013), одноклеточных водорослях (Eichenberger, Gribi, 1994), морских травах (Koelmel et al., 2019), а также в некоторых бактериях и грибах (Hölzl, Dörmann, 2007). Роль данного липида до сих пор не выяснена, однако известно, что его содержание увеличивается при фосфорном голодании (Okazaki et al., 2013).

Только в одном исследовании (Vyssotski et al., 2017) в бурых водорослях был обнаружен ЦФИ, который обычен для красных водорослей, а также грибов и простейших (Smith, Lester, 1974; Kaneshiro et al., 1986). Нельзя исключать, что ЦФИ указывает на наличие в исследованных тканях *U. pinnatifida* грибов, а также эндофитных крас-

Липид	Н	Ни	В	Ви	Вэ
МГДГ	$26.3 \pm 1.3$	$28.7\pm1.2$	$25.7 \pm 1.6$	27.7 ± 1.9	$27.7 \pm 1.7$
СХДГ	$10.2\pm1.6$	$10.8\pm2.3$	$11.1 \pm 0.2$	$9.7 \pm 1.3$	$10.0\pm0.3$
ДГДГ	$14.7 \pm 1.8$	$16.8\pm0.3$	$23.3\pm1.1$	$20.9\pm1.2$	$22.4\pm0.3$
ГКДГ	$1.3 \pm 0.3$	$1.1 \pm 0.4$	$0.5\pm0.2$	$0.9\pm0.3$	$0.6\pm0.2$
ΦΓ	$10.4 \pm 1.8$	$14.2\pm0.7$	$10.3 \pm 1.7$	$11.0\pm0.8$	$11.1 \pm 2.1$
ФИ	$4.2 \pm 0.1$	$3.5\pm0.1$	$3.7\pm0.2$	$2.5\pm0.7$	$2.6\pm0.5$
ЦФИ	$2.7\pm0.2$	$2.3\pm0.7$	$2.1 \pm 0.3$	$1.0 \pm 0.2$	$1.0 \pm 0.1$
ФЭ	$10.9\pm0.8$	$9.1\pm0.4$	$9.1\pm0.6$	$10.1\pm0.6$	$9.4\pm0.7$
ДГТС	$3.2 \pm 0.4$	$2.2\pm0.2$	$2.3\pm0.2$	$2.6 \pm 0.3$	$2.5\pm0.3$
ДГТА	$2.1 \pm 0.3$	$1.5 \pm 0.1$	$1.6\pm0.2$	$1.8\pm0.2$	$1.7 \pm 0.2$
ΦΓЭΓ	$3.5\pm0.5$	$2.5\pm0.2$	$2.6\pm0.1$	$2.8\pm0.3$	$2.7\pm0.2$
ФХ	$10.3 \pm 1.7$	$7.5\pm0.1$	$7.7\pm0.7$	$9.0 \pm 0.5$	$9.2 \pm 0.4$

**Таблица 2.** Содержание классов полярных липидов в разных частях пластины *Undaria pinnatifida* (в моль % от суммы всех полярных липидов)

Примечание. Н – нижняя и В – верхняя части пластины здоровых особей; Ни – нижняя и Ви – верхняя части пластины инфицированных особей с визуально выраженным наличием эндофита на поверхности пластины. Список сокращений названий классов полярных липидов см. в тексте. Значения приведены как среднее  $\pm$  стандартное отклонение для n = 3.

ЖК	Полярные липиды				Нейтральные липиды					
	Н	Ни	В	Ви	Вэ	Н	Ни	В	Ви	Вэ
14:0	$4.6\pm0.5$	$3.2\pm0.3$	$3.5\pm0.4$	$3.5\pm0.8$	$4.0 \pm 0.1$	$5.8\pm0.7$	$5.9\pm0.6$	$5.8\pm0.4$	$6.4\pm0.7$	$5.4\pm0.9$
15:0	$0.4\pm0.0$	$0.3\pm0.0$	$0.3\pm0.0$	$0.4 \pm 0.1$	$0.7\pm0.3$	$1.5\pm0.2$	$1.6\pm0.2$	$1.1 \pm 0.1$	$1.7\pm0.2$	$2.0\pm0.5$
16:0	$16.0\pm2.1$	$12.9\pm1.1$	$13.4\pm1.5$	$13.9\pm0.9$	$17.2\pm0.2$	$16.8\pm1.3$	$20.2\pm1.7$	$17.6 \pm 2.1$	$17.6\pm2.3$	$22.8\pm1.5$
18:0	$2.6\pm0.3$	$3.4\pm0.2$	$2.7\pm0.3$	$3.6\pm1.1$	$5.1 \pm 1.4$	$6.7\pm0.7$	$14.2\pm1.7$	$4.6\pm0.4$	$8.9\pm2.5$	$9.2\pm1.7$
14:1n-7	$0.2\pm0.0$	$0.2\pm0.0$	$0.2\pm0.0$	$0.2\pm0.1$	$0.5\pm0.0$	$2.4\pm0.2$	$3.7\pm0.4$	$1.3\pm0.2$	$3.2\pm0.8$	$2.7\pm1.3$
14:1n-5	$0.1\pm0.0$	$0.1\pm0.0$	+	$0.2\pm0.1$	$0.4\pm0.4$	$1.8\pm0.1$	$2.7\pm0.3$	$0.9\pm0.1$	$1.8\pm0.2$	$1.1\pm0.2$
16:1n-9	$0.5\pm0.0$	$0.4\pm0.1$	$0.3\pm0.0$	$0.5\pm0.2$	$1.3\pm1.0$	$4.1\pm0.3$	$4.0\pm0.5$	$1.7\pm0.2$	$5.1\pm2.9$	$4.1\pm1.2$
16:1n-7	$0.4\pm0.0$	$0.3\pm0.0$	$0.8\pm0.0$	$0.5\pm0.2$	$0.7\pm0.0$	$1.0\pm0.1$	$1.3\pm0.2$	$3.2\pm0.3$	$1.3\pm0.5$	$1.6\pm0.3$
16:1n-13	$1.5\pm0.1$	$1.4\pm0.2$	$1.5\pm0.1$	$1.9\pm0.0$	$1.1 \pm 0.1$	$0.1\pm0.0$	$0.2\pm0.0$	$0.1\pm0.0$	$0.2\pm0.1$	$0.2\pm0.2$
18:1n-9	$8.4\pm0.7$	$7.2 \pm 1.0$	$6.4\pm0.9$	$6.5\pm0.0$	$6.5\pm0.2$	$13.0\pm1.8$	$12.3\pm1.1$	$11.5\pm1.5$	$10.1\pm0.3$	$14.3\pm0.9$
18:2n-6	$4.7\pm0.6$	$4.0\pm0.5$	$3.8\pm0.5$	$3.7\pm0.4$	$3.6\pm0.2$	$6.8\pm0.9$	$5.4\pm0.5$	$7.2\pm0.7$	$5.7\pm1.5$	$5.0\pm1.2$
20:2n-6	$0.1\pm0.0$	$0.1\pm0.0$	$0.1\pm0.0$	$0.1\pm0.0$	$0.3\pm0.2$	$1.0\pm0.1$	$1.6\pm0.1$	$0.6\pm0.1$	$1.3\pm0.4$	$1.3\pm0.5$
18:3n-3	9.2 ± 1.1	$10.4\pm0.8$	9.3 ± 1.2	$9.8\pm0.6$	$7.2\pm0.3$	$7.6\pm0.5$	$4.5\pm0.5$	$7.9\pm0.7$	$6.0\pm1.4$	$3.6 \pm 1.1$
18:4n-3	$26.6\pm2.3$	$28.6\pm3.3$	$25.5\pm3.0$	$24.3\pm2.9$	$20.9\pm0.7$	$4.2\pm0.5$	$2.1\pm0.2$	$7.5\pm0.9$	$3.9\pm1.4$	$2.6\pm1.2$
20:4n-6	$8.6\pm0.7$	$10.0\pm1.1$	$10.1\pm0.9$	$9.8\pm0.9$	$7.9\pm0.8$	$2.7\pm0.4$	$1.7\pm0.2$	$3.0\pm0.3$	$2.2\pm0.8$	$1.1\pm0.3$
20:4n-3	$0.9\pm0.1$	$0.9\pm0.1$	$1.2 \pm 0.1$	$1.2\pm0.5$	$1.4\pm0.2$	$0.9\pm0.1$	$0.6\pm0.1$	$1.8\pm0.2$	$1.1 \pm 0.3$	$0.7\pm0.3$
20:5n-3	$10.1\pm0.6$	$11.7\pm1.1$	$16.0\pm2.2$	$14.3\pm1.3$	$13.2\pm0.1$	$5.9\pm0.7$	$2.9\pm0.2$	$11.9\pm1.1$	$6.2\pm2.2$	$4.0\pm1.5$

**Таблица 3.** Жирнокислотный состав (ЖК) полярных и нейтральных липидов разных частей пластины Undaria pinnatifida (% от суммы всех ЖК)

Примечание. См. примечание к табл. 2. Приведены ЖК, содержание которых хотя бы в одном случае превышало 1%; "+" – содержание ЖК менее 0.1%.



**Рис. 3.** Влияние эндофита на содержание жирных кислот в полярных и нейтральных липидах из разных частей пластины *Undaria pinnatifida* (в % от суммы всех ЖК). Н – нижняя и В – верхняя части пластины здоровых особей; Ни – нижняя и Ви – верхняя части пластины инфицированных особей; Вэ – верхняя часть пластины инфицированных особей с визуально выраженным наличием эндофита на поверхности пластины.

ных водорослей. Однако высокая степень инфицирования обычно характерна для более старых тканей, но полученные данные свидетельствуют об обратном: уровень ЦФИ был выше в нижней более молодой части пластины, что свидетельствует об эндогенном происхождении этого липида.

ДГТА обнаружен во многих бурых водорослях, однако не характерен для порядка Laminariales, а ДГТС вообще редко встречается в бурых водорослях (Хотимченко, 2003). Ранее в водорослях порядка Laminariales эти липиды были обнаружены только в следовых количествах (Eichenberger et al., 1991).

Самый заметный ответ на инфицирование эндофитом – повышение содержания насыщенных и снижение уровня полиненасыщенных ω3 ЖК во фракции нейтральных липидов. Ранее было установлено, что при инфицировании одноклеточных морских водорослей вирусом наблюдался усиленный синтез триглицеридов с насыщенными ЖК, которые накапливались в виде жировых капель (Malitsky et al., 2016). Возможной причиной снижения количества полиненасыщенных ЖК может быть их разрушение активными формами кислорода, образующимися в ответ на инфицирование (Evans et al., 2009). Однако мы обнаружили такие изменения в составе ЖК нейтральных липидов как в месте непосредственного инфицирования, так и в отдаленных нижних частях пластины. Известно, что наличие эндофита нарушает целостность наружных покровов, что

БИОЛОГИЯ МОРЯ том 48 № 5 2022

открывает доступ для вторичных инфекций (Gao et al., 2020). Именно вторичное вирусное или бактериальное инфицирование, распространившееся через пораженные участки верхней части пластины по всей пластине, могло спровоцировать изменения в составе ЖК в тканях, прилегающих к месту непосредственного воздействия эндофита.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

# СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований в рамках научного проекта № 20-34-90112.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят сотрудницу Лаборатории физиологии автотрофных организмов ННЦМБ ДВО РАН А.В. Скрипцову за помощь в определении водорослей.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Хотимченко С.В. Липиды морских водорослей-макрофитов и трав. Владивосток: Дальнаука. 2003. 230 с.
- Campo E. del, Garcia-Reina G., Correa J.A. Degradative disease in Ulva rigida (Chlorophyceae) associated with Acrochaete geniculata (Chlorophyceae) // J. Phycology. 1998. V. 34. № 1. P. 160–166.
- Cho J.-Y., Kang J.-Y., Khan M.N.A. et al. Anti-inflammatory activities of Undaria pinnatifida and Laminaria japonica (Phaeophyta) // J. Fish. Sci. Technol. 2007. V. 10. № 3. P. 127–132.
- *Eichenberger W., Araki S., Müller D.G.* Betaine lipids and phospholipids in brown algae // Phytochemistry. 1991. V. 34. № 5. P. 1323–1333.
- *Eichenberger W., Gribi C.* Diacylglyceryl-α-D-glucuronide from *Ochromonas danica* (Chrysophyceae) // J. Plant Physiol. 1994. V. 144. № 3. P. 272–276.
- Evans C., Pond D.W., Wilson W.H. Changes in Emiliania huxleyi fatty acid profiles during infection with E. huxleyi virus 86: physiological and ecological implications // Aquat. Microb. Ecol. 2009. V. 55. № 3. P. 219–228.
- Faggio C., Morabito M., Minicante S.A. et al. Potential use of polysaccharides from the brown alga Undaria pinnatifida as anticoagulants // Braz. Arch. Biol. Technol. 2015. V. 58. № 5. P. 798–804. https://doi.org/10.1590/S1516-8913201500400
- Gao X., Ogandaga C.A.M., Park S.K et al. Algal endophytes of commercial *Chondrus ocellatus* (Gigartinaceae, Rhodophyte) from different wild populations in Korea (/ L Appl
- phyta) from different wild populations in Korea // J. Appl. Phycol. 2020. V. 32. № 1. P. 697–703.
- Gauna M.C., Parodi E.R., Cáceres E.J. Epi-endophytic symbiosis between Laminariocolax aecidioides (Ectocarpales, Phaeophyceae) and Undaria pinnatifida (Laminariales, Phaeophyceae) growing on Argentinian coasts // J. Appl. Phycol. 2009. V. 21. № 1. P. 11–18.
- Hayashi K., Nakano T., Hashimoto M. et al. Defensive effects of a fucoidan from brown alga Undaria pinnatifida against herpes simplex virus infection // Int. Immuno-pharmacol. 2008. V. 8. № 1. P. 109–116.
- Hölzl G., Dörmann P. Structure and function of glycoglycerolipids in plants and bacteria // Prog. Lipid Res. 2007.
  V. 46. № 5. P. 225–243.
- Jamieson G.R. GLC identification techniques for longchain unsaturated fatty acids // J. Chromatogr. Sci. 1975. V. 13. № 10. P. 491–497.
- Kaneshiro E.S., Jayasimhulu K., Lester R.L. Characterization of inositol lipids from Leishmania donovani promastigotes: identification of an inositol sphingophospholipid // J. Lipid Res. 1986. V. 27. № 12. P. 1294– 1303.
- Khotimchenko S.V., Kulikova I.V. Lipids of different parts of the lamina of Laminaria japonica Aresch. // Bot. Mar. 2000. V. 43. P. 87–91.
- Koelmel J.P., Campbell J.E., Guingab-Cagmat J. et al. Remodeling of foliar membrane lipids in a seagrass allows for growth in phosphorus-deplete conditions // PLoS One. 2019. V. 14. № 11. P. 1–10.

- Li Y., Lou Y., Mu T. et al. Simultaneous structural identification of diacylglyceryl-N-trimethylhomoserine (DGTS) and diacylglycerylhydroxymethyl-N,N,Ntrimethyl-β-alanine (DGTA) in microalgae using dual Li<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> adduct ion mode by ultra-performance liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry // Rapid Commun. Mass Spectrom. 2017. V. 31 № 5. P. 457–468. https://doi.org/10.1002/rcm.7818
- Malitsky S., Ziv C., Rosenwasser S. et al. Viral infection of the marine alga Emiliania huxleyi triggers lipidome remodeling and induces the production of highly saturated triacylglycerol // New Phytol. 2016. V. 210. № 1. P. 88–96.
- Okazaki Y., Otsuki H., Nishizawa T. A new class of plant lipid is essential for protection against phosphorus depletion // Nat. Commun. 2013. V. 4. № 1. P. 1510.
- *Pereira R., Yarish C.* Mass production of marine macroalgae // Encyclopedia of Ecology. Elsevier. 2008. P. 2236–2247.
- Shibata T., Ishimaru K., Kawaguchi S. et al. Antioxidant activities of phlorotannins isolated from Japanese Laminariaceae // J. Appl. Phycol. 2008. V. 20. № 5. P. 705–711.
- Skriptsova A., Khomenko V., Isakov V.I. Seasonal changes in growth rate, morphology and alginate content in Undaria pinnatifida at the northern limit in the Sea of Japan (Russia) // J. Appl. Phycol. 2004. V. 16. № 1. P. 17–21.
- Skriptsova A.V., Kalita T.L. The first record of the brown endophytic alga Laminariocolax aecidioides (Rosenvinge) A.F. Peters, 1998 in the Russian Far-Eastern Seas // Russ. J. Mar. Biol. 2020. V. 46. № 1. P. 42–48.
- Smith S.W., Lester R.L. Inositol phosphorylceramide, a novel substance and the chief member of a major group of yeast sphingolipids containing a single inositol phosphate // J. Biol. Chem. 1974. V. 249. № 11. P. 3395– 3405.
- Stuart M.D., Hurd C.L., Brown M.T. Effects of seasonal growth rate on morphological variation of Undaria pinnatifida (Alariaceae, Phaeophyceae) // Hydrobiologia. 1999. V. 398–399. № 1911. P. 191–199.
- Tabakaeva O.V., Tabakaev A.V. Compositions of lipids and fatty acids from various parts of the brown alga Undaria pinnatifida // Chem. Nat. Compd. 2017. V. 53. № 5. P. 843–848.
- *Titlyanov E.A., Titlyanova T.V.* Seaweed cultivation: methods and problems // Russ. J. Mar. Biol. 2010. V. 36. № 4. P. 227–242.
- Vyssotski M., Lagutin K., MacKenzie A. et al. Phospholipids of New Zealand edible brown algae // Lipids. 2017. V. 52. № 7. P. 629–639.

БИОЛОГИЯ МОРЯ том 48 № 5 2022

# Influence of Endophyte Lamimariocolax aecidioides (Rosenvinge) A.F. Peters, 1998 (Phaeophyceae: Ectocarpales) on the Lipid Composition of the Brown Alga Undaria pinnatifida (Harvey) Suringar, 1873 (Phaeophyceae: Laminariales)

# O. A. Chadova<sup>a</sup> and P. V. Velansky<sup>a</sup>

<sup>a</sup>A.V. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok 690041, Russia

Composition of polar lipid classes and composition of fatty acids of neutral and polar lipid fractions were studied in tissues of the brown alga *Undaria pinnatifida* infected with the endophyte *Laminariocolax aecidioides*. For the first time, the lipid glucuronosyldiacylglycerol was found in brown algae; while ceramide phosphoinositol, diacylglyceryltrimethylhomoserine, and diacylglycerylhydroxymethyltrimethyl- $\beta$ -alanine were also for the first time found in significant amounts in algae of the order Laminariales. It has been established that presence of the endophyte leads to a decrease in the contents of phosphatidylinositol and ceramide phosphoinositol, to a significant increase in the concentration of saturated fatty acids and to a decrease in the content of  $\omega$ 3 polyunsaturated acids in neutral lipids.

Keywords: endophyte, lipids, fatty acids, brown algae