

Ultrastructural characterization of lipid droplet biogenesis and microlipophagy in the pennate diatom *Encyonema silesiacum*

Bedoshvili Ye.D.*, Orlova A.A., Zakharova Yu.R.

Limnological Institute Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Ulan-batorskaya Str., 3, Irkutsk, 664033, Russia

ABSTRACT. Lipid droplets of diatoms are dynamic organelles essential for energy and lipid metabolism within the cell; however, their intracellular life cycle remains largely unexplored at the ultrastructural level. In this study, we investigated the dynamics of lipid droplets in the pennate diatom, *Encyonema silesiacum*, using fluorescence and transmission electron microscopy. The size and number of lipid droplets were assessed using BDP 505/515 staining. After five days of cultivation, lipid droplets had a diameter of $0.6 \pm 0.1 \mu\text{m}$, while with an increase in the cultivation time to 25 days, the diameter decreased to $0.8 \pm 0.2 \mu\text{m}$. In other words, with increasing culture age, the size increased, indicating stress-induced accumulation of TAGs. We suggest that lipid droplets undergo complete vacuolar engulfment, followed by morphological degradation. Analysis of literature data suggests that complete lipid droplet uptake by vacuoles represents a widespread and conserved microlipophagic pathway in diatoms. These results contribute to our understanding of the lipid metabolism diversity in diatoms.

Keywords: *Encyonema silesiacum*, lipid droplets, microlipophagy, vacuole, transmission electron microscopy, diatoms

For citation: Bedoshvili Ye.D., Orlova A.A., Zakharova Yu.R. Ultrastructural characterization of lipid droplet biogenesis and microlipophagy in the pennate diatom *Encyonema silesiacum* // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - P. 523–536. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-523

1. Introduction

Diatoms (phylum Bacillariophyta) are a group of unicellular eukaryotes with the unique ability to synthesize species-specific silica frustules (Round et al., 1990). Currently, the phylum comprises 10 classes (Kociolek et al., 2026) with diverse frustule symmetry. According to the current phylogeny, species with multiradial and polar symmetry belong to six classes (Coretrophycaceae, Leptocylindrophyceae, Melosirophyceae, Coscinodiscophyceae, Thalassiosirophyceae, and Biddulphiophyceae), while bilateral symmetry is characteristic of the classes Striatellaphyceae, Plagiogrammaphyceae, Fragilariophyceae, and Bacillariophyceae (Kociolek et al., 2026).

In addition to their morphological uniqueness, diatoms, like other eukaryotic microalgae, are distinguished for their ability to produce triacylglycerols (TAGs), which are stored in lipid droplets (LDs)—specialized organelles (Goold et al., 2015; Maeda et al., 2017). Depending on cultivation conditions, including stress, diatoms synthesize a wide range of saturated and unsaturated fatty acids, which accumulate in LDs.

LDs are not inert inclusions but dynamic organelles that play a key role in cellular energy and lipid homeostasis. The size and number of LDs vary widely (from 0.3 to 5.6 μm in diameter) depending on environmental conditions and the phase of lipid accumulation (Maeda et al., 2017; Cvjetinovic et al., 2024).

In most eukaryotes, LD biogenesis is conserved process: neutral lipids accumulate between the membrane leaflets of the endoplasmic reticulum (ER), form lenses, and bud off into the cytosol, where they interact with mitochondria and peroxisomes (Olzmann and Carvalho, 2019). In microalgal cells, unlike the bulk of higher plants, LD function as transient organelles (Zienkiewicz et al., 2016): in response to environmental changes, cells break down TAGs and sterol esters, releasing lipids for membrane synthesis and metabolic energy production.

Lipophagy is one of the key pathways for LD degradation, a process mediated by autophagy. In green algae, lipophagy occurred in vacuoles (Zhao et al., 2014; Schwarz et al., 2017; Kokabi et al., 2020; Zienkiewicz et al., 2020). There are two types of lipophagy: mac-

*Corresponding author. E-mail address: bedoshvili@lin.irk.ru (Ye.D. Bedoshvili)

Received: June 30, 2026;

Accepted after revised: August 15, 2026;

Available online: August 28, 2026

© Author(s) 2026. This work is distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.



rolipophagy, which involves the formation of a phagophore and its conversion to an autophagosome, and microlipophagy, in which LD is transferred to the vacuole without the formation of an autophagosome (Garcia et al., 2018). For diatoms, the existence of new, previously unknown microlipophagic pathways is suggested (Nonoyama et al., 2019; Tanaka et al., 2024). Tanaka et al. (2024), based on a *Fistulifera solaris* S. Mayama, M. Matsumoto, K. Nemoto & T. Tanaka model, proteomic analysis, and inhibition of autophagy with chloroquine, demonstrated LD degradation in this diatom via lipophagy. Fluorescence microscopy revealed increased contact between vacuoles and LD under conditions stimulating lipid degradation; this process was suppressed by autophagy inhibitors. Transmission electron microscopy (TEM) demonstrated direct fusion of vacuoles and LD, suggesting the presence of a new type of microlipophagy in *F. solaris*, in which degradation occurs through partial (not complete) fusion of LD into the vacuole (Tanaka et al., 2024).

However, the work by Tanaka et al. (2024) remains one of the few ultrastructural studies of LD degradation in diatoms. Despite growing interest in this group of microalgae, the formation, maturation, and degradation of LD during their intracellular movement remain poorly understood. Given the high morphological diversity of diatoms, we can assume that microlipophagy in different species may have species-specific ultrastructural characteristics. Detailed studies of LD biology in diatoms are necessary to fill the gap in our knowledge of the fundamental features of cellular organization and lipid metabolism in this group.

In this study, we used *Encyonema silesiacum* (Bleisch) D.G. Mann, a freshwater raphe pennate diatom (class Bacillariophyceae), as a model, for which the ultrastructural dynamics of LDs were previously studied. The aim of this study was to characterize the ultrastructural dynamics of LDs in situ using fluorescence microscopy (BDP 505/515 staining) and TEM. Particular attention was paid to the intracellular localization of LDs and their transformation during vacuole immersion.

2. Materials and methods

2.1. Cultivation conditions

Encyonema silesiacum strain Ov460 was isolated from a sample collected from the Yenisei River in 2019. Cells were grown in DM medium (Culture collection..., 1988) at 8°C and 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ illumination with a 12-hour light/12-hour dark cycle. The culture was maintained in 50-mL Erlenmeyer flasks with subcultures every 60 days. Cultures were used for experiments on the 5th and 25th days of culturing. Each time point represented three biological replicates.

2.2. Light and fluorescence microscopy

Living cells from 5- and 25-day-old cultures were stained with the fluorescent dye BDP 505/515 (Lumiprobe, Russia), specific for neutral lipids, to visualize LD. A 5 mM dye solution was added to the cell

medium to a final concentration of 2 μM . After 30 minutes of incubation in the dark, the cells were washed twice with phosphate buffer (0.1 M; pH 7.0) and analyzed using an Olympus IX83 microscope (Olympus, Japan) equipped with a U-FBNA fluorescent filter cube (excitation at 470–495 nm; emission at 510–550 nm). Chloroplast autofluorescence was visualized using a U-FGNA fluorescence filter cube (excitation 360–370 nm; emission 420–460 nm). Micrographs were obtained using an Olympus DP74 digital camera and the CellSens 4.1 software package.

2.3. Measurement of lipid droplet sizes and statistical processing

To assess LD size, measurements were taken using fluorescence micrographs. At each time point, at least 30 randomly selected cells from triplicates were analyzed. All visible LDs in each cell were measured. To compare LD sizes between 5- and 25-day-old cultures, the nonparametric Mann–Whitney U test was used. Differences were considered statistically significant at $p < 0.05$.

2.4. Transmission electron microscopy (TEM)

Cells from a 25-day culture were fixed for three hours in a 2.5% glutaraldehyde solution (Sigma-Aldrich, USA) in phosphate buffer (0.1 M; pH 7.0). After washing in the same buffer (three times for 15 minutes), the samples were further fixed in a 1% osmium tetroxide solution in phosphate buffer for 12 hours at 4°C. Dehydration in a series of increasing ethanol concentrations (30, 50, 70, 80, 96, and 100%) and acetone, as well as embedding in Araldite 502 Kit epoxy resin (SPI, USA), were performed according to the standard protocol (Bedoshvili and Likhoshway, 2012).

Ultrathin sections (60–70 nm thick) were prepared on an Ultracut R ultramicrotome (Leica, Germany) using an ULTRA 35 diamond knife (Diatom, Switzerland). The sections were placed on copper grids and contrasted with a saturated aqueous solution of uranyl acetate (30 min) and Reynolds' lead citrate (10 min). The preparations were analyzed on a Leo 906 E transmission electron microscope (Zeiss, Germany) at an accelerating voltage of 80 kV. Micrographs were obtained using a MegaView II digital camera (Zeiss, Germany).

Sections of 50 different cells were examined. Only transverse sections passing through the central part of the cell were used for analysis, as well as longitudinal and oblique sections, which allow for the unambiguous identification of the main organelles.

3. Results

E. silesiacum cells were $14.5 \pm 1.6 \mu\text{m}$ long and $5.4 \pm 0.3 \mu\text{m}$ wide. Each cell contained a single chloroplast, pressed to the narrower part of the cell with lobes on the facial parts of both valves (Fig. 1). Analysis of cells in culture of different ages, stained with BDP

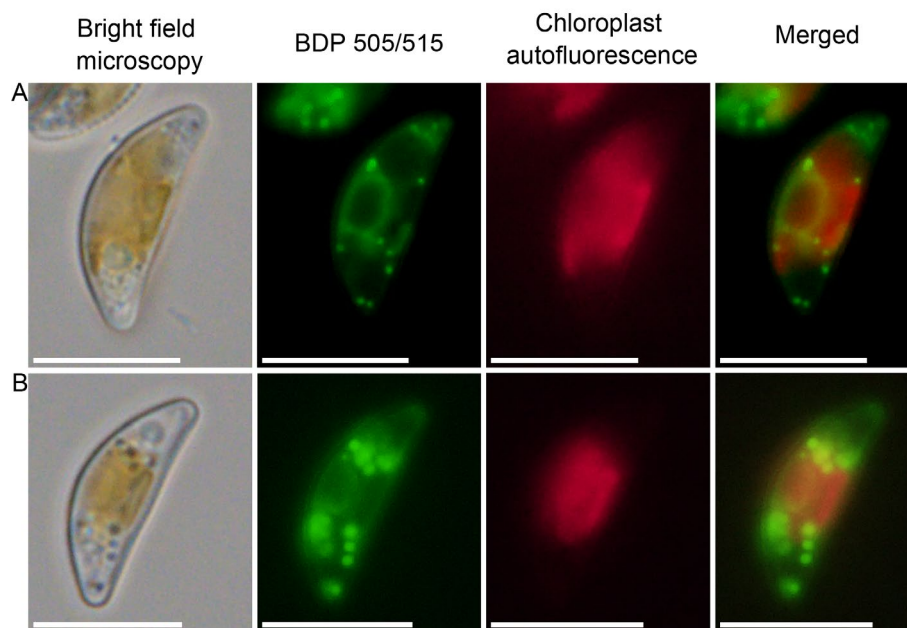


Fig.1. Staining of lipid droplets in living *Encyonema silesiacum* cells using BDP 505/515 (light and fluorescence microscopy). A–cells in a 5-day culture; B–cells in a 25-day culture. Scale bar–10 μm .

505/515, revealed LD in the cytoplasm, $0.6 \pm 0.1 \mu\text{m}$ in diameter for a 5-day culture and $0.8 \pm 0.2 \mu\text{m}$ in diameter for a 25-day culture (Figs. 1, 2). Overall, 81 droplets were analyzed for a 5-day culture and 192 droplets for a 25-day culture. A statistically significant increase in the diameter of LDs was found in the 25-day culture compared to the 5-day culture (medians were $0.794 \mu\text{m}$ and $0.604 \mu\text{m}$, respectively; $U=2757$; $p<0.05$). The number of droplets per cell tended to increase. The 5-day culture was characterized by 6 ± 2 LDs per cell (in this case, cells with visible stained LDs were included), while the 25-day culture was characterized by 8 ± 4 droplets per cell. These values for the number of LDs per cell are qualitative in nature and reflect the observed range of heterogeneity in the culture.

According to TEM data, the cell ultrastructure of the studied strain was consistent with previous data on this species (Fig. 3; Bedoshvili et al., 2018). Two large vacuoles were clearly visible in longitudinal sections (Fig. 3B). TEM revealed various variants of LDs arrangement in the cytoplasm (Fig. 4). In sections, LDs appeared as rounded bodies with homogeneous contents of varying electron density. LDs were

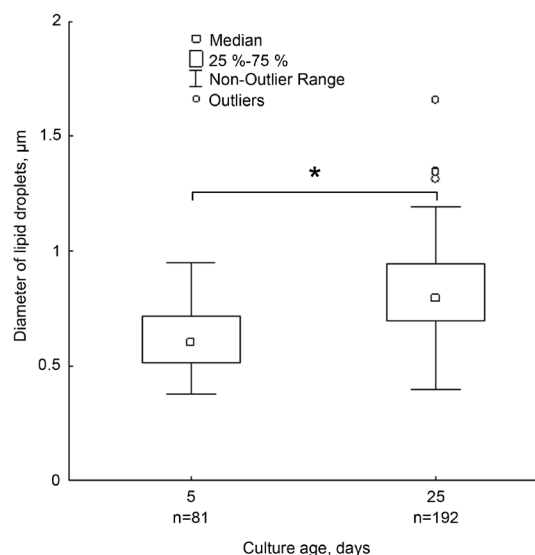


Fig.2. Box plot showing the diameter of lipid droplets in *Encyonema silesiacum* cultures of different ages. The diameter of lipid droplets increased significantly with culturing time ($p<0.05$, Mann-Whitney test). The statistical significance of the differences between the 5- and 25-day groups is indicated by an asterisk (*) above the connecting line.

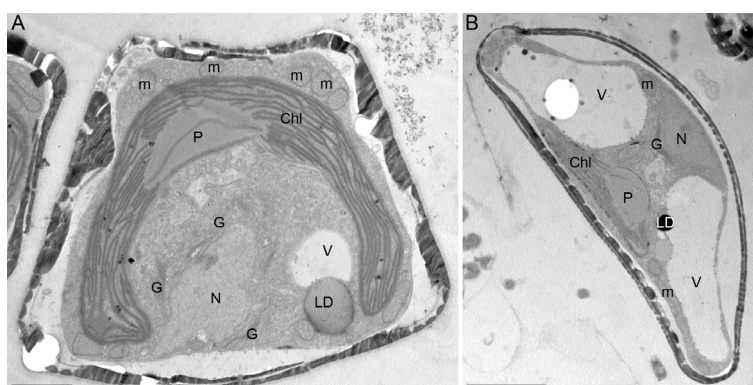


Fig.3. Ultrastructure of *Encyonema silesiacum* cells from the 25-day-old culture (TEM). A–cross-section of a cell; B–longitudinal section of a cell. Legend: Chl–chloroplast; G–Golgi apparatus; LD–lipid droplet; m–mitochondrion; P–pyrenoid; V–vacuole. Scale: A–1 μm ; B–2 μm .

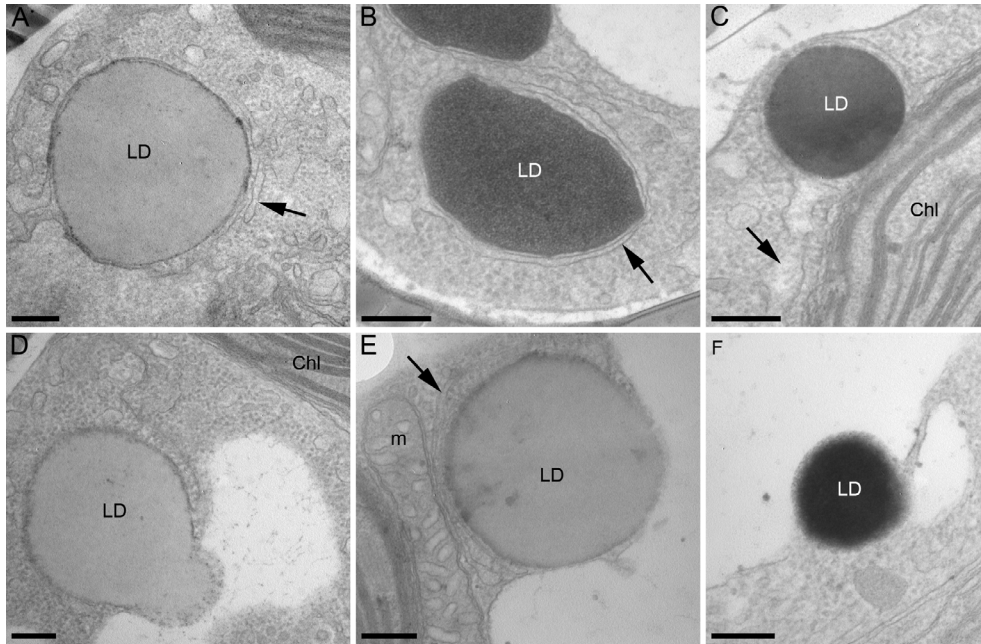


Fig.4. Ultrastructure of lipid droplets from the 25-day-old culture of *Encyonema silesiacum* in the cytoplasm (TEM). A-C—sections of lipid droplets completely localized in the cytoplasm; D-F—lipid droplets partially located in the cytoplasm. Black arrows indicate ER cisterns. Legend: Chl—chloroplast; LD—lipid droplet; m—mitochondrion. Scale bar—200 nm.

located either entirely in the cytoplasm (Fig. 4A-C) or could be partially immersed in a vacuole (Fig. 4D-F). In both cases, LDs could be associated with the ER cistern (Fig. 4A, E).

LDs were also found to be localized in vacuoles, with changes in their morphology observed—cavities of varying density appeared within them (Fig. 5). The density of most of these structures prevented the epoxy resin from effectively penetrating them, resulting in large holes visible in sections of lipid droplets in vacuoles (Fig. 5A, B, D). Such residual lipid droplets in vacuoles could occupy a bulk of the vacuole (Fig. 5B). Figure

5 shows LDs at an early stage (Fig. 5C) and a later stage (Fig. 5D) of morphological changes in the vacuole. In addition to degrading LDs, there were also membrane remnants of unknown origin in the vacuoles.

4. Discussion

BDP 505/515 staining enabled the detection of LDs in *E. silesiacum* cells and the quantification of their diameter in cultures of different ages. An increase in LD size during long-term cultivation was reported for many microalgae species (Goold et al., 2015) and

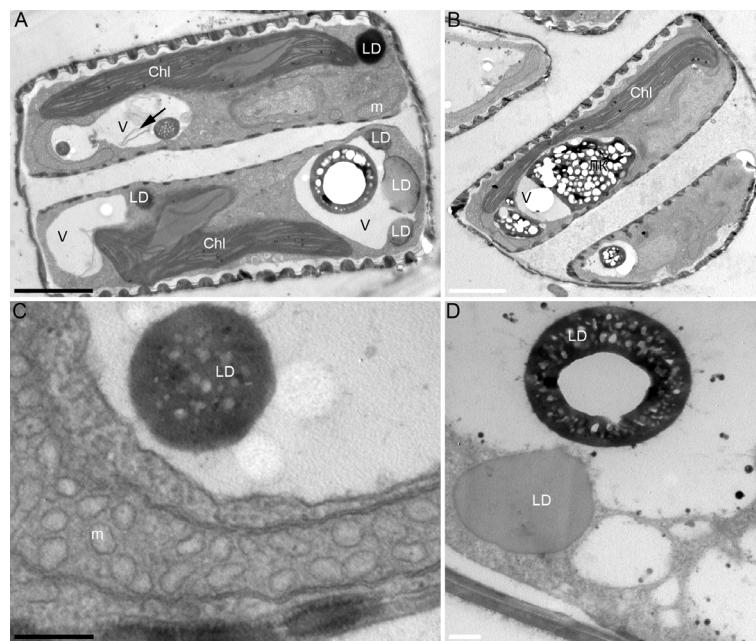


Fig.5. Ultrastructure of lipid droplets from the 25-day-old culture of the *Encyonema silesiacum* vacuoles (TEM). A—oblique section of cells undergoing valve formation after division, all possible types of lipid droplet localization in the studied species are represented in the cell, the black arrow indicates membranes of unknown origin inside the vacuole; B—oblique section through cells forming valves after division, lipid droplets occupy most of the vacuoles; C—enlarged fragment of Figure 5A, the lipid droplet is at the early stage of morphological change after its transfer to the vacuole; D—lipid droplet at the late stage of morphological change in the vacuole. Legend: Chl—chloroplast; LD—lipid droplet; m—mitochondrion; V—vacuole. Scale: A, B—2 μm; C, D—200 nm.

is considered an adaptive response to the depletion of biogenic elements in the medium. In diatoms, increased LD biogenesis is associated with a deficiency of silicon (Roessler, 1988; Smith et al., 2016), nitrogen (Hu et al., 2008; Levitan et al., 2015; Yang et al., 2013), or phosphorus (Lombardi and Wangersky, 1991; Yang et al., 2014). Although we did not directly measure concentrations of biogenic elements or culture growth curves in our study, we speculate that culturing *E. silesiacum* without medium change for 25 days resulted in the depletion of one or more of these elements, which in turn stimulated TAG accumulation and an increase in LD size. Overall, culturing without medium change can be considered a model for stress-induced TAG accumulation in diatom cells as a result of biogenic element deficiency and, possibly, the accumulation of metabolites in the medium.

The ultrastructure of *E. silesiacum* cells, described in detail previously (Bedoshvili et al., 2018), is typical of pennate diatoms and possesses all the characteristic features: a single lobed chloroplast adjacent to the valve and containing a pyrenoid crossed by a thylakoid lamella; a nucleus surrounded by dictyosomes; and mitochondria with tubular cristae (Round et al., 1990). The cytoplasm of the studied species contains numerous vesicles, prominent ER cisterns, and two large vacuoles occupying a significant portion of the cell volume.

Of particular interest is our observed association of LD with ER cisternae (Fig. 4A, E). This association is consistent with the canonical model of LD biogenesis, which posits that neutral lipids accumulate between the ER membrane leaflets, form lenses, and subsequently bud into the cytosol (Olzmann and Carvalho, 2019; Leyland et al., 2020). The presence of ER-associated LD both in the cytoplasm and in a partially vacuolar position suggests that LD transport to the vacuole may occur simultaneously with ongoing biogenesis of new droplets, which is particularly relevant under stress conditions.

In recent years, data have accumulated on the numerous functions of vacuoles in diatoms. They serve as a storage site for biogenic elements (Kooistra et al., 2007; Behrenfeld et al., 2021), chrysolaminarin (Chiovitti et al., 2004; Huang et al., 2016), and, presumably, can differ in functional specialization within a single cell. Autophagy is the most important function of vacuoles in microalgae, including diatoms (Laude et al., 2024; Nonoyama et al., 2019; Tanaka et al., 2024). Previously, it was reported on the centric diatom, *Cyclotella meneghiniana* Kützinger, that exposure to xenobiotics (chlorinated benzenes and chromium) causes the appearance of autophagosome-like structures in vacuoles (Sicko-Goad et al., 1989; Lazinsky and Sicko-Goad, 1990). Autophagic compartments in microalgae are bounded by a single membrane, which identifies them as vacuoles rather than classic autophagosomes.

The obtained data on the localization and morphology of LD in *E. silesiacum* significantly expand our understanding of the mechanisms of lipophagy in diatoms. In contrast to the *F. solaris* model, where only partial fusion of LD with the vacuole was observed, in *E. silesiacum*, complete transfer of LD into the vacuolar compartment with their subsequent morphological

transformation was recorded (Figs 4, 5). This allows us to distinguish sequential stages of vacuolar lipophagy in *E. silesiacum*: initiation, when LD is localized in the cytoplasm; invagination, during which LD is localized at the border of the vacuole (to varying degrees of fusion); and complete transfer and degradation, in which LD is located inside the vacuole and shows signs of destruction. Most likely, the altered LD in vacuoles have a different chemical nature than cytoplasmic droplets. Poor impregnation with epoxy resin indicates that in the vacuolar environment, modification of the LD occurs with partial oxidation or hydrolysis of TAGs, which changes their physicochemical properties.

The data presented here provide new insights into the diversity of microlipophagy mechanisms in diatoms. The complete immersion of LD into the vacuole observed in *E. silesiacum* is most likely not a species-specific feature but may represent a more conserved and widespread mechanism among Bacillariophyta. Previously published ultrastructural works, including classical cytological descriptions (Helmcke and Krieger, 1966–Plates 588, 596, 602, etc.) and relatively new studies (Bedoshvili et al., 2009–Fig 4c; Cvjetinovic et al., 2024–Fig 8D, D’), repeatedly depict LD within vacuoles; however, these structures were not interpreted as stages of microlipophagy and did not attract the attention of researchers focused on other aspects of diatom cytology. In this regard, the *F. solaris* model described by Tanaka et al. (2024) is particularly noteworthy, where microlipophagy is limited to partial contact of the LD with the vacuole without complete engulfment, despite changes in vacuole volume. This difference suggests that in *F. solaris*, this degradation pathway is either blocked at the membrane invagination stage or replaced by an alternative mechanism, making this species an exception among studied diatoms rather than a universal rule.

5. Conclusions

Our data were obtained exclusively using static electron microscopy, which captures cells at a specific point in time and provides only “snapshots” of intracellular processes. Observations of lipid droplets localized in the cytoplasm, at the vacuole border, or within the vacuole provide indirect ultrastructural evidence that we can interpret as sequential stages. Confirmation of lipophagy in current studies requires the use of molecular markers (e.g., colocalization of LDs with autophagosome or vacuolar membrane proteins), autophagy inhibitors, or intravital imaging (Tanaka et al., 2024). Nevertheless, the presented data contribute to our understanding of the morphological diversity of lipophagic pathways in diatoms and form the basis for future molecular studies.

Acknowledgements

Microscopy was performed at the Ultramicroanalysis Shared Use Center of the Limnological Institute Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, <https://www.lin.irk.ru/copp/>.

This study was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, project no. 1023032700153-7-1.6.17 (FVSR-2026-0001) (Limnological Institute Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences).

Conflict of Interest

The authors declare no conflicts of interest.

References

- Bedoshvili Y.D., Gneusheva K.V., Popova M.S. et al. 2018. Frustule morphogenesis of raphid pennate diatom *Encyonema ventricosum* (Agardh) Grunow. *Protoplasma* 255(3): 911–921. DOI: [10.1007/s00709-017-1199-4](https://doi.org/10.1007/s00709-017-1199-4)
- Bedoshvili Ye.D., Likhoshway Ye.V. 2012. The cell ultrastructure of diatoms – implications for phylogeny? The transmission electron microscope. In: Maaz K. (Ed.). *InTech: Croatia*, pp. 147–160.
- Bedoshvili Ye.D., Popkova T.P., Likhoshway Ye.V. 2009. Chloroplast structure of diatoms of different classes. *Cell and Tissue Biology* 3: 297–310. DOI: [10.1134/S1990519X09030122](https://doi.org/10.1134/S1990519X09030122)
- Behrenfeld M.J., Halsey K.H., Boss E. et al. 2021. Thoughts on the evolution and ecological niche of diatoms. *Ecological Monographs* 91: e01457. DOI: [10.1002/ecm.1457](https://doi.org/10.1002/ecm.1457)
- Chiovitti A., Molino P., Crawford S.A. et al. 2004. The glucans extracted with warm water from diatoms are mainly derived from intracellular chrysolaminaran and not extracellular polysaccharides. *European Journal of Phycology* 39: 117–128. DOI: [10.1080/0967026042000201885](https://doi.org/10.1080/0967026042000201885)
- Culture Collection of Algae and Protozoa: Catalogue of Strains. 1988. In: Thompson A.S., Rhodes J.C., Pettman I. (Eds). Ambleside, UK: Freshwater Biological Association.
- Cvjetinovic J., Bedoshvili Y.D., Davidovich N.A. et al. 2024. Exploring salinity induced adaptations in marine diatoms using advanced photonic techniques. *Scientific Reports* 14(1): 32007. DOI: [10.1038/s41598-024-83640-9](https://doi.org/10.1038/s41598-024-83640-9)
- Garcia E.J., Vevea J.D., Pon L.A. 2018. Lipid droplet autophagy during energy mobilization, lipid homeostasis and protein quality control. *Frontiers in Bioscience* 23: 1552.
- Goold H., Beisson F., Peltier G. et al. 2015. Microalgal lipid droplets: composition, diversity, biogenesis and functions. *Plant Cell Reports* 34: 545–555. DOI: [10.1007/s00299-014-1711-7](https://doi.org/10.1007/s00299-014-1711-7)
- Helmcke J.G., Krieger W. 1966. Diatomeenschalen im elektronenmikroskopischen Bild. Teil. VI. Electron Microscopy of Diatom Cells. Bearbeitet von R.W. Drum, H.S. Pankratz, E.F. Stoermer. 100 Tafeln (Originalphotos) in Kassette im Texttheft. J. Cramer, Lehre. DM 100.
- Hu Q., Sommerfeld M., Jarvis E. et al. 2008. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: Perspectives and advances. *The Plant Journal* 54: 621–639. DOI: [10.1111/j.1365-313X.2008.03492.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03492.x)
- Huang W., Rio Bartulos C., Kroth P.G. 2016. Diatom vacuolar 1,6-beta-transglycosylases can functionally complement the respective yeast mutants. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 63: 536–546. DOI: [10.1111/jeu.12298](https://doi.org/10.1111/jeu.12298)
- Kocielek J.P., Ashworth M.P., Alverson A.J. 2026. A phylogenetic classification of diatoms (Bacillariophyta). *Journal of Phycology* 62: 44–67. DOI: [10.1111/jpy.70125](https://doi.org/10.1111/jpy.70125)
- Kokabi K., Gorelova O., Zorin B. et al. 2020. Lipidome remodeling and autophagic response in the arachidonic-acid-rich microalga *Lobosphaera incisa* under nitrogen and phosphorous deprivation. *Frontiers in Plant Science* 11: 614846. DOI: [10.3389/fpls.2020.614846](https://doi.org/10.3389/fpls.2020.614846)
- Kooistra W.H.C.F., Gersonde R., Medlin L.K. et al. 2007. The origin and evolution of the diatoms: their adaptation to a planktonic existence. In: Falkowski P., Knoll A.H. (Eds), *Evolution of primary producers in the sea*. Burlington, MA, USA: Elsevier Inc., pp. 207–249.
- Laude J., Scarsini M., Nef C. et al. 2024. Evolutionary conservation and metabolic significance of autophagy in algae. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 379: 20230368. DOI: [10.1098/rstb.2023.0368](https://doi.org/10.1098/rstb.2023.0368)
- Lazinsky D., Sicko-Goad L. 1990. Morphometric analysis of phosphate and chromium interactions in *Cyclotella meneghiniana*. *Aquatic Toxicology* 16: 127–140. DOI: [10.1016/0166-445X\(90\)90082-Z](https://doi.org/10.1016/0166-445X(90)90082-Z)
- Levitani O., Dinamarca J., Zelzion E. et al. 2015. Remodeling of intermediate metabolism in the diatom *Phaeodactylum tricornutum* under nitrogen stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 112: 412–417. DOI: [10.1073/pnas.1419818112](https://doi.org/10.1073/pnas.1419818112)
- Leyland B., Boussiba S., Khozin-Goldberg I. 2020. A review of diatom lipid droplets. *Biology (Basel)* 9(2): 38. DOI: [10.3390/biology9020038](https://doi.org/10.3390/biology9020038)
- Lombardi A.T., Wangersky P.J. 1991. Influence of phosphorus and silicon on lipid class production by the marine diatom *Chaetoceros gracilis* grown in turbidostat cage cultures. *Marine Ecology Progress Series* 77: 39–47.
- Maeda Y., Nojima D., Yoshino T. et al. 2017. Structure and properties of oil bodies in diatoms. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 372: 20160408. DOI: [10.1098/rstb.2016.0408](https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0408)
- Nonoyama T., Nojima D., Maeda Y. et al. 2019. Proteomics analysis of lipid droplets indicates involvement of membrane trafficking proteins in lipid droplet breakdown in the oleaginous diatom *Fistulifera solaris*. *Algal Research* 44: 11. DOI: [10.1016/j.algal.2019.101660](https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101660)
- Olzmann J.A., Carvalho P. 2019. Dynamics and functions of lipid droplets. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 20(3): 137–155. DOI: [10.1038/s41580-018-0085-z](https://doi.org/10.1038/s41580-018-0085-z)
- Roessler P.G. 1988. Effects of silicon deficiency on lipid composition and metabolism in the diatom. *Journal of Phycology* 24: 394–400. DOI: [10.1111/j.1529-8817.1988.tb04482.x](https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.1988.tb04482.x)
- Round F.E., Crawford R.M., Mann D.G. 1990. *The Diatoms. Biology and Morphology of the Genera*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Schwarz V., Andosch A., Geretschlager A. et al. 2017. Carbon starvation induces lipid degradation via autophagy in the model alga microasterias. *Journal of Plant Physiology* 208: 115–127. DOI: [10.1016/j.jplph.2016.11.008](https://doi.org/10.1016/j.jplph.2016.11.008)
- Sicko-Goad L., Hall J., Lazinsky D. et al. 1989. Effects of chlorinated benzenes on diatom fatty acid composition and quantitative morphology. II. 1,3,5-Trichlorobenzene. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 18(5): 638–646. DOI: [10.1007/BF01225002](https://doi.org/10.1007/BF01225002)
- Smith S.R., Gl C., Abbriano R.M. et al. 2016. Transcript level coordination of carbon pathways during silicon starvation-induced lipid accumulation in the diatom *Thalassiosira pseudonana*. *New Phytologist* 210: 890–904. DOI: [10.1111/nph.13843](https://doi.org/10.1111/nph.13843)
- Tanaka T., Moriya S., Nonoyama T. et al. 2024. Lipid droplets-vacuoles interaction promotes lipophagy in the oleaginous diatom *Fistulifera solaris*. *Algal Research* 79: 103481. DOI: [10.1016/j.algal.2024.103481](https://doi.org/10.1016/j.algal.2024.103481)
- Yang Z., Zheng J., Niu Y. 2014. Systems-level analysis of the metabolic responses of the diatom *Phaeodactylum tricornutum* to phosphorus stress. *Environmental Microbiology* 16: 1793–1807. DOI: [10.1111/1462-2920.12411](https://doi.org/10.1111/1462-2920.12411)
- Yang Z.-K., Niu Y.-F., Ma Y.-H. et al. 2013. Molecular and cellular mechanisms of neutral lipid accumulation in diatom following nitrogen deprivation. *Biotechnology for Biofuels* 6: 67. DOI: [10.1186/1754-6834-6-67](https://doi.org/10.1186/1754-6834-6-67)

Zhao L., Dai J., Wu Q. 2014. Autophagy-like processes are involved in lipid droplet degradation in *Auxenochlorella protothecoides* during the heterotrophy-autotrophy transition. *Frontiers in Plant Science* 5: 400.

Zienkiewicz A., Zienkiewicz K., Poliner E. et al. 2020. The microalga *Nannochloropsis* during transition from quiescence to autotrophy in response to nitrogen availability. *Plant Physiology* 182: 819–839. DOI: [10.1104/pp.19.00854](https://doi.org/10.1104/pp.19.00854)

Zienkiewicz K., Du Z.Y., Ma W. et al. 2016. Stress-induced neutral lipid biosynthesis in microalgae: molecular, cellular and physiological insights. *Biochimica et Biophysica Acta* 1861: 1269–1281. DOI: [10.1016/j.bbalip.2016.02.008](https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2016.02.008)

Ультраструктурная характеристика биогенеза липидных капель и микролипофагии у пеннатной диатомеи *Encyonema silesiacum*

Оригинальная статья

LIMNOLOGY
FRESHWATER
BIOLOGYБедошвили Е.Д.*^{ORCID}, Орлова А.А., Захарова Ю.Р.^{ORCID}

Лимнологический институт, Сибирское отделение Российской академии наук, ул. Улан-Баторская, 3, Иркутск, 664033, Россия

АННОТАЦИЯ. Липидные капли диатомовых водорослей – динамичные органеллы, необходимые для энергетического и липидного обмена в клетке, однако их внутриклеточный жизненный цикл остается в значительной степени неизученным на ультраструктурном уровне. В настоящей работе была исследована динамика липидных капель у пеннатной диатомовой водоросли *Encyonema silesiacum* с помощью флуоресцентной и просвечивающей электронной микроскопии. Оценка размеров и количества липидных капель осуществлялась с помощью окраски BDP 505/515. Показано, что при культивировании в течение 5 дней липидные капли имели диаметр $0,6 \pm 0,1$ мкм, а при увеличении времени культивирования до 25 дней – $0,8 \pm 0,2$ мкм, т.е. с увеличением возраста культуры наблюдалось увеличение размеров, что указывало на стресс-индуцированное накопление ТАГ. Мы предполагаем, что липидные капли полностью переносятся в вакуоли с последующей морфологической деградацией. Анализ данных литературы позволяет предположить, что полное поглощение липидных капель вакуолями представляет собой широко распространенный и консервативный путь микролипофагии у диатомовых водорослей. Полученные результаты способствуют пониманию разнообразия липидного метаболизма у диатомовых водорослей.

Ключевые слова: *Encyonema silesiacum*, липидные капли, микролипофагия, вакуоль, просвечивающая электронная микроскопия, диатомовые водоросли

Для цитирования: Бедошвили Е.Д., Орлова А.А., Захарова Ю.Р. Ультраструктурная характеристика биогенеза липидных капель и микролипофагии у пеннатной диатомеи *Encyonema silesiacum* // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - С. 523-536. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-523

1. Введение

Диатомовые водоросли (филум Bacillariophyta) – группа одноклеточных эукариот, обладающих уникальной способностью синтезировать видоспецифичные кремнеземные панцири (Round et al., 1990). В настоящее время филум насчитывает 10 классов (Kocielek et al., 2026) с разнообразной симметрией панциря. Согласно современной филогении, виды с мультирадиальной и полярной симметрией относятся к шести классам (Coretrophysaeae, Leptocyliodrophysaeae, Melosirophysaeae, Coscinodiscophysaeae, Thalassiosirophysaeae и Biddulphiophysaeae), тогда как билатеральная симметрия характерна для классов Striatellaphysaeae, Plagiogrammaphysaeae, Fragilariophysaeae и Bacillariophysaeae (Kocielek et al., 2026).

Помимо морфологической уникальности, диатомовые водоросли, как и другие эукариотические микроводоросли, привлекают внимание в качестве продуцентов триацилглицеролов (ТАГ), запасаемых в составе липидных капель (ЛК) – специализированных органелл (Goold et al., 2015; Maeda et al., 2017). В зависимости от условий культивирования, в том числе при стрессе, диатомовые водоросли синтезируют разнообразный репертуар насыщенных и ненасыщенных жирных кислот, которые накапливаются в ЛК. Липидные капли представляют собой не инертные включения, а динамичные органеллы, играющие ключевую роль в энергетическом и липидном гомеостазе клетки. Размер и количество ЛК варьируют в широких пределах (от 0,3 до 5,6 мкм в диаметре) в зависимости от условий среды и фазы накопления липидов (Maeda et al., 2017; Cvjetinovic et al., 2024).

*Автор для переписки. Адрес e-mail: bedoshvili@lin.irk.ru (Е.Д. Бедошвили)

Поступила: 30 июня 2026;

Принята после доработки: 15 августа 2026;

Опубликована online: 28 августа 2026

© Автор(ы) 2026. Эта работа распространяется под международной лицензией Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.



У большинства эукариот биогенез ЛК консервативный процесс: нейтральные липиды накапливаются между листками мембраны эндоплазматического ретикулума (ЭР), формируют линзы и отпочковываются в цитозоль, после чего взаимодействуют с митохондриями и пероксисомами (Olzmann and Carvalho, 2019). В клетках микроводорослей, в отличие от большинства высших растений, ЛК функционируют как временные органеллы (Zienkiewicz et al., 2016): в ответ на изменения окружающей среды клетки расщепляют ТАГ и эфиры стеролов, высвобождая липиды для синтеза мембран и выработки метаболической энергии.

Одним из ключевых путей деградации ЛК является липофагия – процесс, опосредованный аутофагией. У зеленых водорослей показано, что липофагия происходит в вакуолях (Zhao et al., 2014; Schwarz et al., 2017; Kokabi et al., 2020; Zienkiewicz et al., 2020). Различают два типа липофагии: макролипофагию, включающую формирование фагофора и его преобразование в аутофагосому, и микролипофагию, при которой ЛК переносится в вакуоль без образования аутофагосомы (Garcia et al., 2018). Для диатомовых водорослей предполагается существование новых, ранее неизвестных путей микролипофагии (Nonoyama et al., 2019; Tanaka et al., 2024). В работе Танака с соавторами (2024) на модели *Fistulifera solaris* S. Mayama, M. Matsumoto, K. Nemoto & T. Tanaka с использованием протеомного анализа и ингибирования аутофагии хлорохином было показано, что деградация ЛК у этой диатомеи действительно происходит через липофагию. Флуоресцентная микроскопия выявила увеличение контакта вакуолей с ЛК в условиях, стимулирующих деградацию липидов; этот процесс подавлялся ингибиторами аутофагии. Просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ) продемонстрировала прямое слияние вакуолей и ЛК, что позволило авторам предположить наличие у *F. solaris* нового типа микролипофагии, при котором деградация происходит при частичном (не полном) погружении ЛК в вакуоль (Tanaka et al., 2024).

Тем не менее, работа Танака с соавторами (2024) остается одним из немногих ультраструктурных исследований деградации ЛК у диатомовых водорослей. Несмотря на растущий интерес к этой группе микроводорослей, особенности формирования, созревания и деградации ЛК в процессе их внутриклеточного перемещения остаются малоизученными. Учитывая высокое морфологическое разнообразие диатомей, можно предположить, что микролипофагия у разных видов может иметь видоспецифичные ультраструктурные характеристики. Детальные исследования биологии ЛК у диатомовых водорослей необходимы для восполнения пробела в знаниях о фундаментальных особенностях клеточной организации и метаболизме липидов этой группы.

В настоящей работе мы выбрали в качестве модели *Encyonema silesiacum* (Bleisch) D.G. Mann – представителя пресноводных шовных пеннатных диатомей (класс Bacillariophyceae), для которого ультраструктурная динамика ЛК ранее не изуча-

лась. Целью исследования было охарактеризовать ультраструктурную динамику ЛК *in situ* с использованием флуоресцентной микроскопии (окрашивание BDP 505/515) и ПЭМ. Особое внимание уделено внутриклеточной локализации ЛК и их трансформации при погружении в вакуоль.

2. Материалы и методы

2.1. Условия культивирования

Штамм *Encyonema silesiacum* Ov460 был выделен из пробы, отобранной в р. Енисей в 2019 г. Клетки выращивали на среде DM (Culture collection..., 1988) при температуре 8 °C и освещенности 300 мкмоль м⁻² с⁻¹ в режиме 12 ч света: 12 ч темноты. Культуру поддерживали в 50-мл колбах Эрленмейера с пересевом каждые 60 дней. Для экспериментов использовали культуру через 5 и 25 дней после посева. Каждая временная точка представлена тремя биологическими повторностями.

2.2. Световая и флуоресцентная микроскопия

Живые клетки из культур 5- и 25-суточного возраста окрашивали для визуализации ЛК флуоресцентным красителем BDP 505/515 (Lumiprobe, Россия), специфичным к нейтральным липидам. Раствор красителя с концентрацией 5 мМ добавляли в среду с клетками до конечной концентрации 2 мкМ. Через 30 мин инкубации в темноте клетки дважды отмывали фосфатным буфером (0,1 М, pH 7,0) и анализировали с помощью микроскопа Olympus IX83 (Olympus, Japan), оснащенным флуоресцентным фильтр-кубом U-FBNA (возбуждение при 470–495 нм, эмиссия 510–550 нм). Автофлуоресценция хлоропластов визуализировалась с помощью флуоресцентного фильтр-куба U-FGNA (возбуждение 360–370 нм, эмиссия 420–460 нм). Микрофотографии получены с помощью цифровой камеры Olympus DP74 и пакета программ CellSens 4.1.

2.3. Измерение размеров липидных капель и статистическая обработка

Для оценки размеров ЛК проводили измерения на флуоресцентных микрофотографиях. В каждой временной точке анализировали не менее 30 случайно выбранных клеток из трех повторностей. Измеряли все видимые ЛК в каждой клетке. Для сравнения размеров ЛК между культурами 5- и 25-суточного возраста использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

2.4. Просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ)

Клетки 25-суточной культуры фиксировали в течение 3 ч в 2,5% растворе глутарового альдегида (Sigma-Aldrich, США) в фосфатном буфере (0,1

М, pH 7,0). После отмывки в том же буфере (3 раза по 15 мин) образцы дополнительно фиксировали в 1% растворе тетраоксида осмия на фосфатном буфере в течение 12 ч при 4°C. Обезвоживание в серии этанола возрастающей концентрации (30, 50, 70, 80, 96 и 100%) и ацетона, а также заключение в эпоксидную смолу Araldite 502 Kit (SPI, США) проводили по стандартному протоколу (Bedoshvili and Likhoshvay, 2012).

Ультратонкие срезы толщиной 60–70 нм готовили на ультрамикротоме Ultracut R (Leica, Германия) с помощью алмазного ножа ULTRA 35 (Diatom, Швейцария). Срезы помещали на медные сетки с формваровой подложкой и контрастировали насыщенным водным раствором уранила ацетата (20 мин) и цитратом свинца по Рейнольдсу (5 мин). Анализ препаратов проводили на трансмиссионном электронном микроскопе Leo 906 E (Zeiss, Германия) при ускоряющем напряжении 80 кВ. Микрофотографии получали с помощью цифровой камеры MegaView II (Zeiss, Германия).

Были исследованы срезы 50 разных клеток. Для анализа использовали только поперечные срезы, проходящие через центральную часть клетки, а также продольные и косые срезы, позволяющие однозначно идентифицировать основные органеллы.

3. Результаты

Клетки *E. silesiacum* имели длину $14,5 \pm 1,6$ мкм и ширину $5,4 \pm 0,3$ мкм. В каждой клетке присутствовал единственный хлоропласт, прижатый к более узкой части клетки с лопастями, расположенными на лицевых частях обеих створок (Рис. 1). Анализ клеток в культуре разного возраста, окрашенных BDP 505/515, показало наличие в цитоплазме ЛК размером $0,6 \pm 0,1$ мкм в диаметре для 5-дневной культуры и $0,8 \pm 0,2$ мкм в диаметре

для 25-дневной культуры (Рис. 1, 2). Всего проанализированы 81 капля для 5-дневной культуры и 192 капли для 25-дневной культуры. Обнаружено статистически значимое увеличение диаметра ЛК в 25-дневной культуре по сравнению с 5-дневной (медианы составили 0,794 мкм и 0,604 мкм соответственно; $U = 2757$, $p < 0,05$). Количество капель на клетку имело тенденцию к увеличению. Для 5-дневной культуры было характерно наличие 6 ± 2 ЛК на клетку (в данном случае в анализ были включены клетки с видимыми окрашенными ЛК), а для 25-дневной культуры – 8 ± 4 капли на клетку. Приведенные значения числа ЛК на клетку имеют качественный характер и отражают наблюдаемый диапазон гетерогенности в культуре.

По данным ПЭМ ультраструктура клеток исследованного штамма соответствует данным, полученным для этого вида ранее (Рис. 3; Bedoshvili et al., 2018). На продольных срезах четко видны две крупные вакуоли (Рис. 3Б). ПЭМ позволила выявить различные варианты расположения ЛК в цитоплазме (Рис. 4). На срезах ЛК имели вид округлых телец с однородным содержимым различной электронной плотности. ЛК располагались как полностью в цитоплазме (Рис. 4А-В), так и могли быть частично погружены в вакуоль (Рис. 4Г-Е). В обоих случаях ЛК могли быть связаны с цистерной ЭПР (Рис. 4А, Д).

Установлена локализация ЛК также и в вакуолях, при этом наблюдалось изменение их морфологии – внутри появлялись полости различной плотности (Рис. 5). Плотность большинства этих структур не позволило эпоксидной смоле достаточно эффективно проникнуть в них, в связи с этим на срезах ЛК в вакуолях видны крупные отверстия (Рис. 5А, Б, Г). Такие остаточные ЛК в вакуолях могли занимать большую часть вакуоли (Рис. 5Б). На Рисунке 5 представлены ЛК, находящиеся на ранней стадии (Рис. 5В) и более поздней стадии

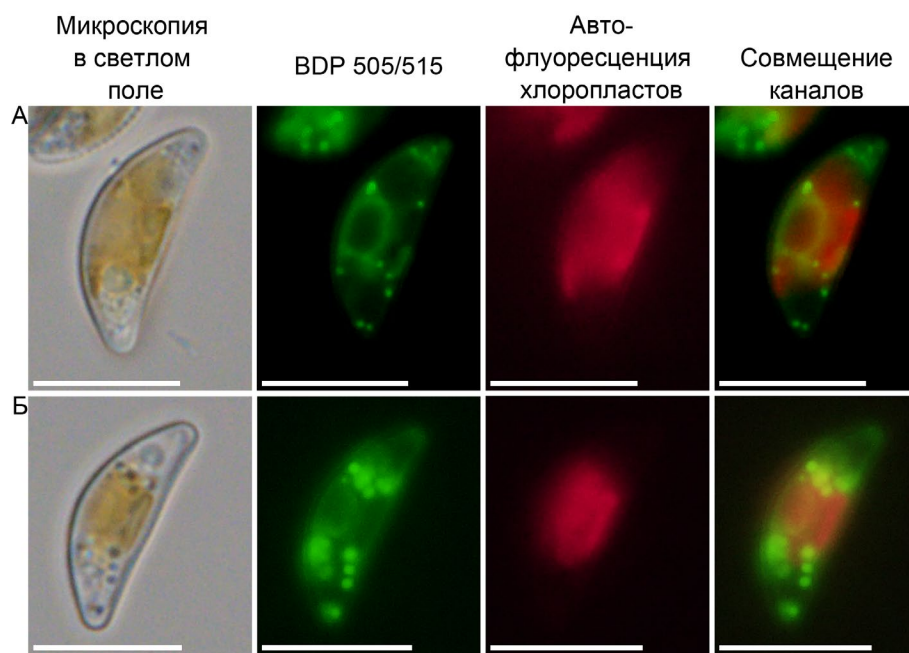


Рис.1. Окраска липидных капель в живых клеток *Encyonema silesiacum* с помощью BDP 505/515 (Световая и флуоресцентная микроскопия). А – клетки в 5-дневной культуре; Б – клетки в 25-дневной культуре. Масштаб – 10 мкм.

(Рис. 5Г) морфологических изменений, происходящих в вакуоли. В вакуолях наряду с деградирующими ЛК обнаруживаются также остатки мембран неизвестного происхождения.

4. Обсуждение

Окраска BDP 505/515 позволила выявить в клетках *E. silesiacum* ЛК и количественно оценить их диаметр в культурах разного возраста. Увеличение размеров ЛК при длительном культивировании показано для многих видов микроводорослей (Goold et al., 2015) и рассматривается как адаптивный ответ на истощение питательных веществ в среде. У диатомовых водорослей усиленный биогенез ЛК связывают с дефицитом кремния (Roessler, 1988; Smith et al., 2016), азота (Hu et al., 2008; Levitan et al., 2015; Yang et al., 2013) или фосфора (Lombardi and Wangersky, 1991; Yang et al., 2014). Хотя в нашем исследовании мы не проводили прямого измерения концентрации питательных веществ или кривых роста культуры, мы предполагаем, что культивирование *E. silesiacum* без замены среды в течение 25 дней привело к истощению одного или нескольких из этих элементов, что, в свою очередь, стимулировало накопление триацилглицеролов и увеличение размера ЛК. В целом культивирование без смены среды можно рассматривать как модель стрессовой индукции накопления ТАГ в клетках диатомовых водорослей в результате дефицита биогенных элементов, а также, возможно, и накопления метаболитов в среде.

Ультраструктура клеток *E. silesiacum*, детально описанная ранее (Bedoshvili et al., 2018), является типичной для пеннатных диатомей и обладает всеми характерными признаками: единственный лопастный хлоропласт, прилежащий к створке и содержащий пиреноид, пересекаемый тилакоидной ламеллой; ядро, окруженное диктиосомами и митохондрии с тубулярными кристами (Round et al., 1990). В цитоплазме исследованного вида присутствуют многочисленные везикулы, выраженные цистерны ЭР и две крупные вакуоли, занимающие значительную часть объема клетки.

Особенно интересна обнаруженная нами ассоциация ЛК с цистернами ЭПР (Рис. 4А, Д). Эта

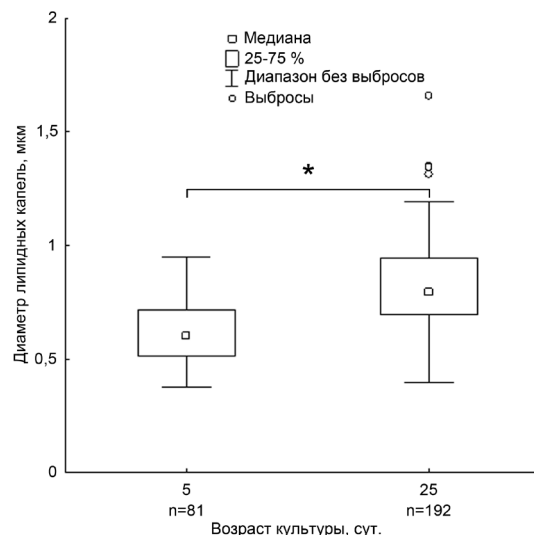


Рис.2. Коробчатая диаграмма, отражающая диаметр липидных капель в культуре *Encyonema silesiacum* разного возраста. Диаметр липидных капель значительно увеличивался со временем культивирования ($p < 0,05$, критерий Манна-Уитни). На рисунке статистическая значимость различий между группами с 5- и 25-дневным культивированием обозначена звездочкой (*) над соединительной линией.

связь хорошо согласуется с канонической моделью биогенеза ЛК, согласно которой нейтральные липиды накапливаются между листками мембраны ЭПР, формируют линзы и впоследствии отпочковываются в цитозоль (Olzmann and Carvalho, 2019; Leyland et al., 2020). Присутствие ЛК, ассоциированных с ЭПР, как в цитоплазме, так и в позиции частичного погружения в вакуоль, позволяет предположить, что транспорт ЛК к вакуоли может происходить одновременно с продолжающимся биогенезом новых капель, что особенно актуально в условиях стресса.

В последние годы накапливаются данные о многочисленных функциях вакуолей у диатомовых водорослей. Они служат местом хранения питательных веществ (Kooistra et al., 2007; Behrenfeld et al., 2021), хризоламинарина (Chiovitti et al., 2004; Huang et al., 2016), а также, предположительно, могут различаться по функциональной специализации в пределах одной клетки. Важнейшей функцией вакуолей у микроводорослей, включая диатомей,

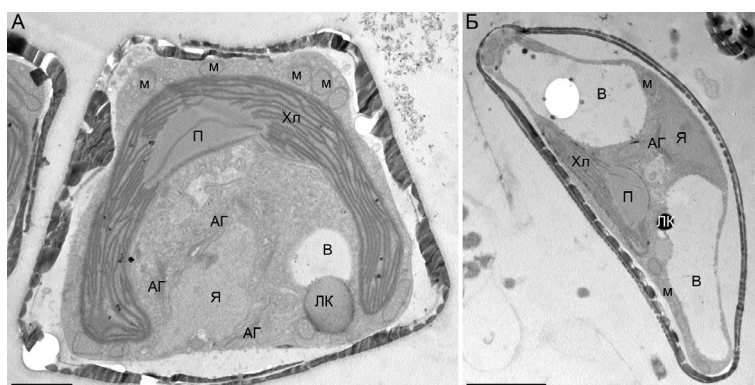


Рис.3. Ультраструктура клеток *Encyonema silesiacum* из 25-дневной культуры (ПЭМ). А – поперечный срез клетки; Б – продольный срез клетки. Условные обозначения: АГ – аппарат Гольджи; В – вакуоль; ЛК – липидная капля; м – митохондрия; П – пиреноид; Хл – хлоропласт. Масштаб: А – 1 мкм; Б – 2 мкм.

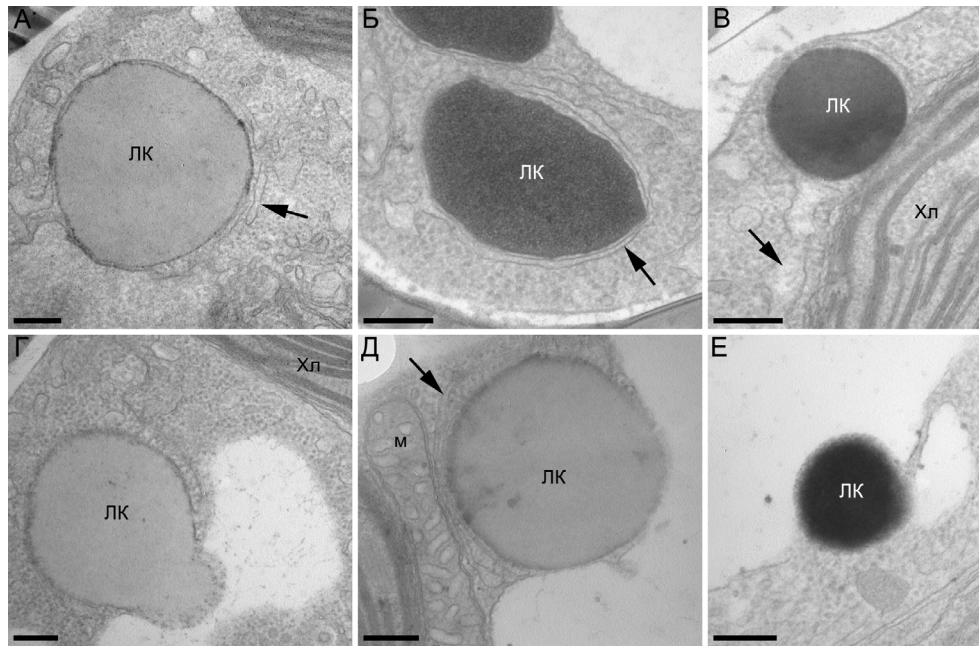


Рис.4. Ультраструктура липидных капель *Encyonema silesiacum* в цитоплазме клеток из 25-дневной культуры (ПЭМ). А-В – срезы липидных капель, полностью локализованных в цитоплазме; Г-Е – липидные капли, частично расположенные в цитоплазме. Черные стрелки показывают цистерны ЭПР. Условные обозначения: ЛК – липидная капля; м – митохондрия; Хл – хлоропласт. Масштаб – 200 нм.

являются процессы аутофагии (Laude et al., 2024; Nonoyama et al., 2019; Tanaka et al., 2024). Ранее для центрической диатомеи *Cyclotella meneghiniana* Kützinger было показано, что воздействие ксенобиотиков (хлорированных бензолов и хрома) вызывает появление в вакуолях аутофагосомоподобных структур (Sicko-Goad et al., 1989; Lazinsky and Sicko-Goad, 1990). Аутофагические компартменты у микроводорослей ограничены одиночной мембраной, что идентифицирует их именно как вакуоли, а

не классические аутофагосомы.

Полученные данные о локализации и морфологии ЛК у *E. silesiacum* позволяют существенно расширить представления о механизмах липофагии у диатомей. В отличие от модели *F. solaris*, где наблюдалось лишь частичное слияние ЛК с вакуолью, у *E. silesiacum* был зафиксирован полный перенос ЛК в вакуолярный компартмент с их последующей морфологической трансформацией (Рис. 4, 5). Это позволяет выделить у *E. silesiacum* последователь-

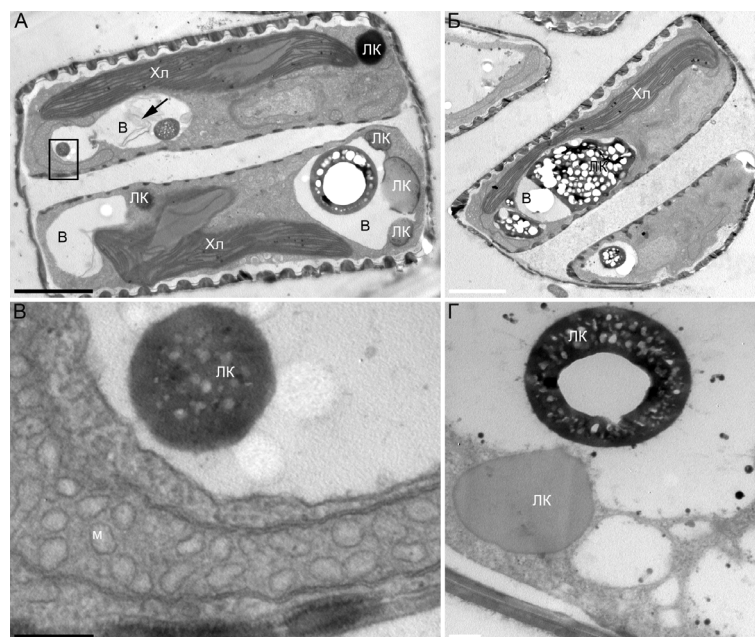


Рис.5. Ультраструктура липидных капель *Encyonema silesiacum* в вакуолях клеток из 25-дневной культуры (ПЭМ). А – косой срез клеток, проходящих формирования створки после деления, в клетке представлены все возможные типы локализации липидных капель у исследованного вида, черная стрелка указывает на мембраны неизвестного происхождения внутри вакуоли; Б – косой срез через клетки, формирующие створки после деления, липидные капли занимают большую часть вакуолей; В – увеличенный фрагмент рисунка 5А, липидная капля находится на ранней стадии изменения морфологии после ее переноса в вакуоль; Г – липидная капля на поздней стадии изменения морфологии в вакуоли. Условные обозначения: В – вакуоль; ЛК – липидная капля; м – митохондрия; Хл – хлоропласт. Масштаб: А, Б – 2 мкм; В, Г – 200 нм.

ные стадии вакуолярной липофагии: инициация, когда ЛК локализуется в цитоплазме; инвагинация, при которой ЛК локализуется на границе вакуоли (в разной степени погружения) и полный перенос и деградация – при этом ЛК находится внутри вакуоли и имеет признаки деструкции. Наиболее вероятно, что измененные ЛК в вакуолях имеют иную химическую природу, нежели цитоплазматические капли. Плохая пропитка эпоксидной смолой указывает на то, что в вакуолярной среде происходит модификация ЛК с частичным окислением или гидролизом ТАГ, что меняет их физико-химические свойства.

Представленные нами данные позволяют по-новому взглянуть на разнообразие механизмов микролипофагии у диатомовых водорослей. Наблюдаемое у *E. silesiacum* полное погружение ЛК в вакуоль, наиболее вероятно, не является видоспецифичной особенностью, а может представлять собой более консервативный и широко распространенный механизм среди Bacillariophyta. В ранее опубликованных ультраструктурных работах, включая классические цитологические описания (Helmcke and Krieger, 1966 – Plates 588, 596, 602, etc.) и относительно новые исследования (Bedoshvili et al., 2009 – Fig 4c; Cvjetinovic et al., 2024 – Fig. 8D, D') неоднократно встречаются изображения ЛК внутри вакуолей, однако эти структуры не интерпретировались как стадии микролипофагии и не привлекали внимание исследователей, сфокусированных на других аспектах цитологии диатомовых водорослей. В этой связи особенно примечательной выглядит модель *F. solaris*, описанная Танака с соавторами (2024), где микролипофагия ограничивается частичным контактом ЛК с вакуолью без полного поглощения, даже несмотря на изменение объема вакуоли. Такое различие позволяет предположить, что у *F. solaris* данный путь деградации либо заблокирован на стадии инвагинации мембраны, либо замещен альтернативным механизмом, что делает этот вид скорее исключением среди изученных диатомей, нежели демонстрацией универсального правила.

5. Заключение

Наши данные были получены исключительно с помощью статической электронной микроскопии, которая фиксирует клетки в определенный момент времени и предоставляет лишь «моментальные снимки» внутриклеточных процессов. Наблюдения липидных капель, локализованных в цитоплазме, на границе вакуоли или внутри вакуоли, предоставляют косвенные ультраструктурные доказательства, которые мы можем интерпретировать как последовательные стадии. Подтверждение липофагии в современных исследованиях требует использования молекулярных маркеров (например, колокализация липидных капель с белками аутофагосом или вакуолярной мембраны), ингибиторов аутофагии или прижизненной визуализации (Tanaka et al., 2024). Тем не менее, представленные данные способствуют нашему пониманию морфологического

разнообразия липофагических путей у диатомовых водорослей и составляют основу для будущих молекулярных исследований.

Благодарности

Микроскопия проводилась в центре коллективного пользования «Ультрамикрoанализ» ЛИН СО РАН, <https://www.lin.irk.ru/copp/>.

Данное исследование было поддержано Министерством науки и высшего образования Российской Федерации, проект № 1023032700153-7-1.6.17(ФВСП-2026-0001) (Лимнологический институт, Сибирское отделение Российской академии наук).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Список литературы

- Bedoshvili Y.D., Gneusheva K.V., Popova M.S. et al. 2018. Frustule morphogenesis of raphid pennate diatom *Encyonema ventricosum* (Agardh) Grunow. *Protoplasma* 255(3): 911–921. DOI: [10.1007/s00709-017-1199-4](https://doi.org/10.1007/s00709-017-1199-4)
- Bedoshvili Ye.D., Likhoshway Ye.V. 2012. The cell ultrastructure of diatoms – implications for phylogeny? The transmission electron microscope. In: Maaz K. (Ed.). *InTech: Croatia*, pp. 147–160.
- Bedoshvili Ye.D., Popkova T.P., Likhoshway Ye.V. 2009. Chloroplast structure of diatoms of different classes. *Cell and Tissue Biology* 3: 297–310. DOI: [10.1134/S1990519X09030122](https://doi.org/10.1134/S1990519X09030122)
- Behrenfeld M.J., Halsey K.H., Boss E. et al. 2021. Thoughts on the evolution and ecological niche of diatoms. *Ecological Monographs* 91: e01457. DOI: [10.1002/ecm.1457](https://doi.org/10.1002/ecm.1457)
- Chiovitti A., Molino P., Crawford S.A. et al. 2004. The glucans extracted with warm water from diatoms are mainly derived from intracellular chrysolaminaran and not extracellular polysaccharides. *European Journal of Phycology* 39: 117–128. DOI: [10.1080/0967026042000201885](https://doi.org/10.1080/0967026042000201885)
- Culture Collection of Algae and Protozoa: Catalogue of Strains. 1988. In: Thompson A.S., Rhodes J.C., Pettman I. (Eds). Ambleside, UK: Freshwater Biological Association.
- Cvjetinovic J., Bedoshvili Y.D., Davidovich N.A. et al. 2024. Exploring salinity induced adaptations in marine diatoms using advanced photonic techniques. *Scientific Reports* 14(1): 32007. DOI: [10.1038/s41598-024-83640-9](https://doi.org/10.1038/s41598-024-83640-9)
- Garcia E.J., Vevea J.D., Pon L.A. 2018. Lipid droplet autophagy during energy mobilization, lipid homeostasis and protein quality control. *Frontiers in Bioscience* 23: 1552.
- Goold H., Beisson F., Peltier G. et al. 2015. Microalgal lipid droplets: composition, diversity, biogenesis and functions. *Plant Cell Reports* 34: 545–555. DOI: [10.1007/s00299-014-1711-7](https://doi.org/10.1007/s00299-014-1711-7)
- Helmcke J.G., Krieger W. 1966. Diatomeenschalen im elektronenmikroskopischen Bild. Teil. VI. *Electron Microscopy of Diatom Cells*. Bearbeitet von R.W. Drum, H.S. Pankratz, E.F. Stoermer. 100 Tafeln (Originalphotos) in Kassette im Textheft. J. Cramer, Lehre. DM 100.
- Hu Q., Sommerfeld M., Jarvis E. et al. 2008. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: Perspectives and advances. *The Plant Journal* 54: 621–639. DOI: [10.1111/j.1365-3113X.2008.03492.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-3113X.2008.03492.x)

- Huang W., Rio Bartulos C., Kroth P.G. 2016. Diatom vacuolar 1,6-beta-transglycosylases can functionally complement the respective yeast mutants. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 63: 536–546. DOI: [10.1111/jeu.12298](https://doi.org/10.1111/jeu.12298)
- Kocielek J.P., Ashworth M.P., Alverson A.J. 2026. A phylogenetic classification of diatoms (Bacillariophyta). *Journal of Phycology* 62: 44–67. DOI: [10.1111/jpy.70125](https://doi.org/10.1111/jpy.70125)
- Kokabi K., Gorelova O., Zorin B. et al. 2020. Lipidome remodeling and autophagic response in the arachidonic-acid-rich microalga *Lobosphaera incisa* under nitrogen and phosphorous deprivation. *Frontiers in Plant Science* 11: 614846. DOI: [10.3389/fpls.2020.614846](https://doi.org/10.3389/fpls.2020.614846)
- Kooistra W.H.C.F., Gersonde R., Medlin L.K. et al. 2007. The origin and evolution of the diatoms: their adaptation to a planktonic existence. In: Falkowski P., Knoll A.H. (Eds), *Evolution of primary producers in the sea*. Burlington, MA, USA: Elsevier Inc., pp. 207–249.
- Laude J., Scarsini M., Nef C. et al. 2024. Evolutionary conservation and metabolic significance of autophagy in algae. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 379: 20230368. DOI: [10.1098/rstb.2023.0368](https://doi.org/10.1098/rstb.2023.0368)
- Lazinsky D., Sicko-Goad L. 1990. Morphometric analysis of phosphate and chromium interactions in *Cyclotella meneghiniana*. *Aquatic Toxicology* 16: 127–140. DOI: [10.1016/0166-445X\(90\)90082-Z](https://doi.org/10.1016/0166-445X(90)90082-Z)
- Levitani O., Dinamarca J., Zelzion E. et al. 2015. Remodeling of intermediate metabolism in the diatom *Phaeodactylum tricornutum* under nitrogen stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 112: 412–417. DOI: [10.1073/pnas.1419818112](https://doi.org/10.1073/pnas.1419818112)
- Leyland B., Boussiba S., Khozin-Goldberg I. 2020. A review of diatom lipid droplets. *Biology (Basel)* 9(2): 38. DOI: [10.3390/biology9020038](https://doi.org/10.3390/biology9020038)
- Lombardi A.T., Wangersky P.J. 1991. Influence of phosphorus and silicon on lipid class production by the marine diatom *Chaetoceros gracilis* grown in turbidostat cage cultures. *Marine Ecology Progress Series* 77: 39–47.
- Maeda Y., Nojima D., Yoshino T. et al. 2017. Structure and properties of oil bodies in diatoms. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 372: 20160408. DOI: [10.1098/rstb.2016.0408](https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0408)
- Nonoyama T., Nojima D., Maeda Y. et al. 2019. Proteomics analysis of lipid droplets indicates involvement of membrane trafficking proteins in lipid droplet breakdown in the oleaginous diatom *Fistulifera solaris*. *Algal Research* 44: 11. DOI: [10.1016/j.algal.2019.101660](https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101660)
- Olzmann J.A., Carvalho P. 2019. Dynamics and functions of lipid droplets. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 20(3): 137–155. DOI: [10.1038/s41580-018-0085-z](https://doi.org/10.1038/s41580-018-0085-z)
- Roessler P.G. 1988. Effects of silicon deficiency on lipid composition and metabolism in the diatom. *Journal of Phycology* 24: 394–400. DOI: [10.1111/j.1529-8817.1988.tb04482.x](https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.1988.tb04482.x)
- Round F.E., Crawford R.M., Mann D.G. 1990. *The Diatoms. Biology and Morphology of the Genera*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Schwarz V., Andosch A., Geretschlager A. et al. 2017. Carbon starvation induces lipid degradation via autophagy in the model alga *microcystis*. *Journal of Plant Physiology* 208: 115–127. DOI: [10.1016/j.jplph.2016.11.008](https://doi.org/10.1016/j.jplph.2016.11.008)
- Sicko-Goad L., Hall J., Lazinsky D. et al. 1989. Effects of chlorinated benzenes on diatom fatty acid composition and quantitative morphology. II. 1,3,5-Trichlorobenzene. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 18(5): 638–646. DOI: [10.1007/BF01225002](https://doi.org/10.1007/BF01225002)
- Smith S.R., Gl C., Abbriano R.M. et al. 2016. Transcript level coordination of carbon pathways during silicon starvation-induced lipid accumulation in the diatom *Thalassiosira pseudonana*. *New Phytologist* 210: 890–904. DOI: [10.1111/nph.13843](https://doi.org/10.1111/nph.13843)
- Tanaka T., Moriya S., Nonoyama T. et al. 2024. Lipid droplets-vacuoles interaction promotes lipophagy in the oleaginous diatom *Fistulifera solaris*. *Algal Research* 79: 103481. DOI: [10.1016/j.algal.2024.103481](https://doi.org/10.1016/j.algal.2024.103481)
- Yang Z., Zheng J., Niu Y. 2014. Systems-level analysis of the metabolic responses of the diatom *Phaeodactylum tricornutum* to phosphorus stress. *Environmental Microbiology* 16: 1793–1807. DOI: [10.1111/1462-2920.12411](https://doi.org/10.1111/1462-2920.12411)
- Yang Z.-K., Niu Y.-F., Ma Y.-H. et al. 2013. Molecular and cellular mechanisms of neutral lipid accumulation in diatom following nitrogen deprivation. *Biotechnology for Biofuels* 6: 67. DOI: [10.1186/1754-6834-6-67](https://doi.org/10.1186/1754-6834-6-67)
- Zhao L., Dai J., Wu Q. 2014. Autophagy-like processes are involved in lipid droplet degradation in *Auxenochlorella protothecoides* during the heterotrophy-autotrophy transition. *Frontiers in Plant Science* 5: 400.
- Zienkiewicz A., Zienkiewicz K., Poliner E. et al. 2020. The microalga *Nannochloropsis* during transition from quiescence to autotrophy in response to nitrogen availability. *Plant Physiology* 182: 819–839. DOI: [10.1104/pp.19.00854](https://doi.org/10.1104/pp.19.00854)
- Zienkiewicz K., Du Z.Y., Ma W. et al. 2016. Stress-induced neutral lipid biosynthesis in microalgae: molecular, cellular and physiological insights. *Biochimica et Biophysica Acta* 1861: 1269–1281. DOI: [10.1016/j.bbalip.2016.02.008](https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2016.02.008)