

Разграничение видов микроводорослей клады *Parachlorella* (Chlorophyta)

Научный руководитель – Темралеева Анна Диссенгалиевна

Кривина Елена Сергеевна

Кандидат наук

Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пущино,
Россия

E-mail: Pepelisa@yandex.ru

Клада *Parachlorella*, сестринская кладе *Chlorella*, была выделена Krienitz с соавт. в 2004 году на основании различий в нуклеотидных последовательностях гена 18S рРНК и внутреннего транскрибируемого спейсера ITS2 [3]. Впоследствии это разделение было подтверждено Yamamoto с соавт. (2005) [5] с помощью ультраструктурных исследований синтеза клеточных стенок автоспор. В настоящее время клада включает 10 родов: *Parachlorella*, *Dictyosphaerium*, *Kalenjinia*, *Compactochlorella*, *Planktochlorella*, *Marsphaerium*, *Masaia*, *Mucidosphaerium*, *Closteriopsis*, *Dicloster* [2]. Помимо микроводорослей с одиночными шаровидными и овальными клетками к данной кладе принадлежат микроводоросли с удлинёнными или игловидными клетками, а также колониальные роды. Однако до сих пор правильная идентификация представителей клады затруднительна из-за скудности и пластичности морфологических признаков и отсутствия надежных диаκριтических характеристик для разграничения близкородственных таксонов [4]. Объектами данного исследования стали штаммы ACSSI 334 и ACSSI 336, изолированные из пресноводных водоемов, и штамм ACSSI 337, выделенный из биопленки в цветочном горшке. Культивирование штаммов осуществляли стандартными методами в лабораторных условиях (Кривина, Темралеева, 2020). Для анализа морфологических характеристик использовали световую микроскопию, для молекулярно-генетического анализа - амплификацию последовательности 18S-ITS1-5.8S-ITS2 с последующим секвенированием.

В результате исследования было установлено, что использование только гена 18S рРНК не позволяет надежно разграничить виды и роды внутри клады. Добавление более вариабельных спейсеров ITS1 и ITS2 разрешило топологию дерева, усилило филогенетический сигнал и позволило разделить таксоны на основе различий во вторичной структуре спейсеров. Несмотря на относительную простоту морфологии, для микроводорослей изученной клады характерно высокое криптическое разнообразие. Так полифилетическими видами являются *Dictyosphaerium libertatis*, *D. ehrenbergianum*, *Compactochlorella kochii*, *Mucidosphaerium pulchellum*, *M. palustre*, *Closteriopsis acicularis*. Результаты анализа генетических дистанций и алгоритмов делимитации видов GMYC, PTP, ABGD не являются универсальными инструментами для обнаружения видовых границ и нуждаются в подтверждении другими признаками. Применение классического СВС-подхода, основанного на поиске СВС в консервативных регионах ITS2, было малоэффективным. Благодаря комплексному использованию морфологических признаков, таких как размер и форма молодых и взрослых клеток, способ крепления клеток к гиалиновым тяжам, диаметр колоний, наличие и толщина слизи, тип хлоропласта, наличие и количество пиреноидов, различий в местообитании, генетических характеристик, таких как наличие/отсутствие интронов, величина генетических дистанций, присутствие СВС в ITS1 и ITS2, и результатов алгоритмов делимитации видов GMYC, PTP, ABGD, нам удалось охарактеризовать 11 групп и 2 филогенетические линии в рамках клады *Parachlorella* и выдвинуть предположения о возможной концепции родов и видов внутри выделенных групп.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-34-60002.

Источники и литература

- 1) Кривина Е.С., Темралеева А.Д. Проблема идентификации и криптическое разнообразие микроводорослей клады *Chlorella* (Chlorophyta) // Микробиология. 2020. Т. 89. Вып. 6. С. 714–727.
- 2) Guiry M.D., Guiry G.M. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway, 2021. <http://www.algaebase.org>
- 3) Krienitz L., Hegewald E.H., Hepperle D., Huss V.A.R., Rohr T., Wolf M. Phylogenetic relationship of *Chlorella* and *Parachlorella* gen. nov. (Chlorophyta, Trebouxiophyceae) // Phycologia. 2004. V. 43. P. 529–542.
- 4) Song H., Qinghua Wang Q., Liu X., Hu Y., Long J., Guoxiang Liu G., Hu Z. Phylogenetic Diversity and Taxonomic Problems of the *Dictyosphaerium* Morphotype within the *Parachlorella* Clade (Chlorellaceae, Trebouxiophyceae) // J. Eukaryot. Microbiol. 2018. V. 65. P. 382– 91.
- 5) Yamamoto M., Kurihara I., Kawano S. Late type daughter cell wall synthesis in one of the Chlorellaceae, *Parachlorella kessleri* (Chlorophyta, Trebouxiophyceae) // Planta. 2005. V. 221. P. 766–775.