

## Полифазный подход как современная основа для ревизии микроводорослей клады *Chlorella* (Chlorophyta)

Научный руководитель – Темралеева Анна Дисенгалиевна

**Кривина Елена Сергеевна**

Кандидат наук

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

E-mail: [PepeLisa@yandex.ru](mailto:PepeLisa@yandex.ru)

В настоящее время к роду *Chlorella* относится около 100 видов зеленых микроводорослей. Последняя масштабная ревизия штаммов клады *Chlorella* проводилась С. Вокс с соавт. и Т. Pröschold с соавт. в 2010-2011 гг. [1, 3]. Правильная идентификация хлорелл затруднительна из-за скудности и высокой пластичности морфологических признаков и отсутствия надежных диакритических признаков для разграничения близкородственных таксонов [2]. Дополнительные осложнения возникают вследствие методических манипуляций при мониторинге водных проб (фильтрация, фиксация, просмотр на малых увеличениях).

Объектами данного исследования стали штаммы, принадлежащие кладе *Chlorella*, генетические последовательности которых депонированные в GenBank, и новый штамм ACSSI 198, изолированный из оз. Прудовиков (г. Тольятти, Самарская область). Выделение, очистку и культивирование штамма осуществляли стандартными приемами в лабораторных условиях. Для морфологической характеристики использовали световую микроскопию, для молекулярно-генетического анализа — амплификацию последовательности 18S-ITS1-5.8S-ITS2.

Было выявлено, что ген 18S рРНК оказался достаточно консервативным, чтобы успешно разграничить виды внутри клады *Chlorella*. Добавление более вариабельных спейсеров ITS1 и ITS2 разрешило топологию дерева и усилило филогенетический сигнал. Клада *Chlorella* кластеризовалась со 100%-ной статистической поддержкой, внутри образуя 7 групп надродового уровня. Виды рода *Chlorella* не образовали монофилетичной клады. В группу «истинные хлореллы» вместе с типовым видом рода *C. vulgaris* вошли *C. heliozoae*, *C. pituita*, *C. rotunda*, *C. variabilis* и *Lobosphaeropsis lobophora*. Остальные виды относились к другим группам, и их таксономическая принадлежность нуждается в уточнении. В результате морфологического анализа по собственным и литературным данным не было обнаружено ни одной фенотипической характеристики, позволяющей однозначно определить видовую принадлежность штаммов *Chlorella*-клады. Многие морфологические признаки (слизь, соединительные тяжи, формирование колоний, щетинкообразование) являются адаптацией на воздействие окружающей среды, отличаются вариабельностью и часто трансформируются или утрачиваются при методических манипуляциях в мониторинге (фильтрация, фиксация формалином). Примененный нами СВС-критерий для разграничения видов по вторичной структуре ITS2 в кладе *Chlorella* оказался не эффективен.

Тем не менее, благодаря использованию полифазного подхода, комбинирующего морфологические (форма и размер клеток, формирование колоний, слизь, соединительные тяжи, щетинкообразование, тип хлоропласта), физиологические (потребность в витаминах и казаминовых кислотах), экологические (местообитание и образ жизни) и молекулярно-генетические признаки (наличие интрона в гене 18S рРНК, генетические дистанции, различия во вторичной структуре ITS2), нам удалось охарактеризовать семь групп внутри клады *Chlorella* и разделить виды внутри выделенных групп.

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

### Источники и литература

- 1) Bock C., Krienitz L., Pröschold T. Taxonomic reassessment of the genus *Chlorella* (Trebouxiophyceae) using molecular signatures (barcodes), including description of seven new species // *Fottea*. 2011. V. 11. No. 2. P. 293-312.
- 2) Luo W., Pröschold T., Bock C. Krienitz L. Generic concept in *Chlorella*-related coccoid green algae (Chlorophyta, Trebouxiophyceae) // *Plant Biology*. 2010. V. 12. P. 545-553.
- 3) Pröschold T., Bock C., Luo W., Krienitz L. Polyphyletic distribution of bristle formation in *Chlorellaceae*: *Micractinium*, *Diacanthos*, *Didymogenes* and *Hegewaldia* gen. nov. (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) // *Phycological Research*. 2010. V. 58. No. 1. P. 1-8.