

# ЦИАНОПРОКАРИОТЫ ЦИАНОБАКТЕРИИ

систематика, окология, распространение, использование в биотехнологии

> 13-16 июня 2023 г., Москва, Россия

УДК 582.26 ББК 28.591.2 П78

**Цианопрокариоты/цианобактерии:** систематика, экология, распространение, использование в биотехнологии. Материалы V Международной научной школыконференции, посвященной 150-летию со дня рождения выдающегося альголога А. А. Еленкина (г. Москва, Россия, 13—16 июня 2023 г.). — Москва: 2023. — 70 с.

В сборнике помещены материалы исследований по проблемам морфологии, систематики, эволюции и молекулярной филогении цианопрокариот/цианобактерий, их использовании в оценке качества окружающей среды, экологии, палеоэкологии, биостратиграфии. Освещены теоретические и прикладные аспекты.

Для специалистов в области альгологии, микробиологии, гидробиологии, экологии. Материалы конференции печатаются в авторской редакции.

Научное электронное издание

УДК 582.26 ББК 28.591.2

<sup>©</sup> Коллектив авторов, 2023

<sup>©</sup> Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева, 2023

## ОГЛАВЛЕНИЕ

Давыдов Д.А.	Гайсина Л.А., Фазлутдинова А.И., Сафиуллина Л.М.,
Профессор А.А. Еленкин — основатель российской школы	Хасанова Г.Ф., Гизатуллина А.И., Резванова Е.Р., Суханова Н.В.
по изучению цианопрокариот	Изучение цианобактериально-водорослевых флор Южно-Уральского региона <b>23</b>
Сенатская Е.В., Пиневич А.В.	Горелова О.А., Карпова О.В., Баулина О.И.,
Новые таксоны одноклеточных цианобактерий из коллекции CALU	Семенова Л.Р., Селях И.О., Соловченко А.Е., Лобакова Е.С.
Санкт-Петербургского государственного университета <b>7</b>	Аномалии формирования гетероцист <i>Nostoc</i> sp. PCC 7120 при различной доступности
Александров С.В., Горбунова Ю.А.	неорганического фосфора25
Воздействие цианобактериальных «цветений» на прибрежную зону	<b>Горин К.К.</b> Новые находки цианопрокариот
в лагунной экосистеме Куршского залива	для российской акватории Финского залива Балтийского моря <b>26</b>
Андреева Н.А.	
Цианобактерии глубоководного бентоса	Дмитриева О.А., Семенова А.С. Казакова Е.Ю.
прибрежной акватории Крыма10	Структура и динамика планктонных сообществ в прибрежной зоне Куршского залива
Баженова О.П., Молибога Е.А.	Балтийского моря в 2017–2021 гг. в период цианобактериальных «цветений» воды
Перспективы использования фитомассы <i>Limnospira fusiformis</i>	Еремкина Т.В., Корбут Д.Е.
(Cyanoprokaryota) из оз. Солёного (г. Омск) в производстве пищевых продуктов <b>12</b>	Цианобактериальные «цветения» в водоемах Среднего и Южного Урала
Батаева Ю.В., Синетова М.А.,	Зыкова Ю.Н., Ковина А.Л., Трефилова Л.В.
Григорян Л.Н.	Методы сохранения
Биотехнологические возможности цианобактерий, выделенных	музейных штаммов цианобактерий в жизнеспособном состоянии
из экосистем Астраханской области13	Ицык Т.В., Горин К.К.
<b>Бачура Ю.М.</b> Об изучении почвенных цианобактерий в Беларуси	Предварительные сведения о бентосных цианопрокариотах прибрежной зоны острова Гогланд (Финский залив,
Бозиева А.М., Хасимов М.Х., Волошин Р.А.,	Балтийское море)32
Синетова М.А., КуприяноваЕ.В.,	Капустин Д.А., Куликовский М.С.
Жармухамедов С.К., Аллахвердиев С.И.	П.М. Царенко (1956–2023) и его вклад
Исследование механизмов	в альгологию
выделения водорода у цианобактерий <b>16</b>	Кезля Е.М., Куликовский М.С.
Величко Н.В., Смирнова С.В., Райко М.П.	Новая информационная система микроводорослей
Культивируемые и некультивируемые	и цианобактерий России Algabank <b>34</b>
антарктические цианобактерии	Коваль Е.В., Огородникова С.Ю.
водоемов оазиса Ларсерманн17	Оценка чувствительности цианобактерий
Воденеева Е.Л., Шарагина Е.М.,	к фосфорорганическим поллютантам
<b>Кулизин П.В.</b> Развитие синезеленых водорослей	Кокшарова О.А., Сафронова Н.А.
в Чебоксарском водохранилище	Биологическая активность
в зоне влияния Нижегородской ГЭС19	и экологическое значение нейротоксичной аминокислоты ВМАА <b>37</b>
Воякина Е.Ю., Чернова Е.Н	
Распространение цианобактерий и их	Корнева Л.Г., Чернова Е.Н.
метаболитов в прибрежной зоне Ладожского озера в районе Валаамского архипелага20	Цианобактериальное «цветение» воды в волжских водохранилищах и его токсичность
Гайсина Л.А., Мальцев Е.И.	
Молекулярно-генетические и экологические особенности штамма <i>Microcoleus</i> , выделенного из почв лесостепной зоны	
Башкирии (Южный Урал)21	

Косякова А.И., Самылина О.С.	Сиделев С.И.	
Географическое и экологическое распространение цианобактерий рода Sodalinema 41	Оценка численности микроцистин-продуцирующих <i>Microcystis</i> в мелководном эвтрофном озере	
Кривова З.В., Мальцев Е.И., Куликовский М.С. Жирнокислотный состав представителей рода <i>Nostoc</i>	-	.58
Кузикова И.Л., Зайцева Т.Б., Чернова Е.Н., Сазанова А.Л., Медведева Н.Г. Альгицидная активность и деструкция микроцистина-LR новым штаммом <i>Penicillium</i> sp. GF3, выделенным	Влияние цианобактериальных цветений на микробиологические показатели воды прибрежной зоны Куршского залива Балтийского моря	.59
из Финского залива (Балтийское море)	Метагеномное и полногеномное секвенирование цианобактерий наземных экосистем	.61
сенсорной гистидинкиназы HIK33 в регуляции стрессовых ответов y <i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803 GT-L <b>46</b>	Тихонова И.В., Федотов А.П., Краснопеев А.Ю., Ли С., Потапов С.А., Сороковикова Е.Г., Кабилов М.Р., Ломакина А.В., Белых О.И.	
Леусенко П.А., Миронов К.С., Габриелян Д.А., Синетова М.А., Стариков А.Ю., Волошин Р.А., Лось Д.А.	Цветения токсичных цианобактерий в озере Байкал в прошлом и настоящем	.63
Synechococcus elongatus PCC7942 с синтетическими оперонами для промышленного получения полиненасыщенных жирных кислот	Шарагина Е.М., Воденеева Е.Л., Кулизин П.В., Старцева Н.А., Журова Д.А., Охапкин А.Г. Синезеленые водоросли как компонент альгоценозов уникальных карстовых озер	
Мальцев Е.И., Мальцева С.Ю., Куликовский М.С.		64
Новый вид <i>Desmonostoc</i> из почв Большого Кавказа <b>49</b>	Первые сведения о цианопрокариотах водных объектов национального парка "Красноярские столбы"	66
Мельник А.С., Дмитриева О.Г. Пространственное распределение цианобактерий в Юго-Восточной Балтике в летний период 2020 г	Макарёнкова Н.Н.  Состав и структура цианобактериального комплекса во время «цветения»	
Миронов К.С., Синетова М.А., Лось Д.А.	на Белом озере (Вологодская область)	68
Секвенирование геномов цианобактерий коллекции IPPAS	Намсараев З.Б., Мельникова А.А., Комова А.В. Ждет ли нас рост числа вспышек	
Патова Е.Н., Новаковская И.В., Гусев Е.С., Шадрин Д.М., Сивков М.Д.	массового развития цианобактерий в водоемах России?	.69
Разнообразие цианобактерий в биологических почвенных корках северных регионов Урала на основе морфологических и метагеномных подходов <b>.52</b>		
Родина О.А., Сазанова К.В., Вильнет А.А., Давыдов Д.А., Шаварда А.Л., Власов Д.Ю.		
Метаболом литобионтных цианобактериальных сообществ горы Айкуайвенчорр (Хибины, Мурманская область)53		
Родина О.А., Чернышова И.А., Шевченко Б.А., Снарская Д.Д., Франк-Каменецкая О.В.		
Биоминерализация под действием цианобактерий в обогащенных кальцием растворах <b>54</b>		
Самылина О.С.		
Меж двух миров: Cyanophyta vs. Cyanobacteriota <b>56</b>		

### Д.А. Давыдов

# ПРОФЕССОР А.А. ЕЛЕНКИН — ОСНОВАТЕЛЬ РОССИЙСКОЙ ШКОЛЫ ПО ИЗУЧЕНИЮ ЦИАНОПРОКАРИОТ

D.A. Davydov

# PROFESSOR A.A. ELENKIN — THE FOUNDER OF RUSSIAN CYANOBACTERIAL SCIENCE SCHOOL

Полярно-альпийский ботанический сад-институт им. Н.А. Аврорина ФИЦ КНЦ РАН, Апатиты, Россия, d.davydov@ksc.ru

17 ноября 2023 г. исполняется 150 лет со для рождения выдающегося российского альголога Александра Александровича Еленкина [4(17).11.1873, Варшава, — 19.4.1942, Казань]. За свою 50-летнюю научную деятельность он успел сделать чрезвычайно много: основал гербарий низших растений Ботанического института в Санкт-Петербурге, явился основоположником российской лихенологии (Титов, 2008) и основателем отечественной школы по изучению цианопрокариот. Выпустил фундаментальные сводки по флоре лишайников Средней России (1906-1911), флоре мхов Средней России, (1909), пресноводным водорослям Камчатки (1914) и 3-х томную монографию «Синезеленые водоросли СССР» (1936, 1938, 1949), но кажется главным достижением Александра Александровича стала целая плеяда подготовленных им учеников, определившая развитие отечественной криптогамной ботаники. Именно усилиями А.А. Еленкина был запущен процесс развития отдельных ветвей российской ботанической науки — альгологии, лихенологии, бриологии, который распространился по многим научным центрам нашей страны.

А.А. Еленкин родился в семье военного инженера, дворянин по происхождению. Окончил 1-ю Варшавскую гимназию (1893) и поступил на естественное отделение физико-математического факультета Варшавского университета. В годы учебы с 1893 по 1897 под руководством В.И. Беляева занимался изучением анатомии и физиологии растений. Одновременно (1893-1896) под руководством А.А. Фишера фон Вальдгейма Еленкин изучает флору споровых и цветковых растений Ойцовской долины Келецкой губернии (Польша), богатую редкими и реликтовыми растениями. Его конкурсное сочинение «Флора Ойцовской долины» (опубл. 1901) удостоено золотой медали Варшавского университета. В работе даны список грибов (266 видов), высших споровых (21), голосеменных (5), покрытосеменных (724), геоботанический очерк. В современных реалиях трудно представить себе кандидатскую диссертацию, которая была бы столь детальна и всеобъемлюща. По окончании университета Еленкин остаётся ассистентом на кафедре систематики и морфологии растений (до 1898 г.) (Липшиц, 1950). В 1896 г. А.А. Фишер фон Вальдгейм становится директором Ботанического сада в Санкт-Петербурге. Вступив в должность, он «был огорчен состоянием гербария споровых растений, выписал талантливого студента (Еленкина) на заведывание гербарием» (Штина, Гецен, 1997). В 1899 г. Еленкин приступает к работе в Ботаническом саду в должности младшего консерватора и заведующего споровым гербарием. Вся его дальнейшая трудовая деятельность связана с Ботаническим садом, который был в 1931 году преобразован в Ботанический институт. В начале 1900-х годов А.А. Еленкин совершает многочисленные экспедиции на Кавказ, в Крым, в Саяны, по Средней России, в Мурманскую область, на оз. Селигер, Черноморское побережье, в Московскую область.

С 1906 по 1913 гг. Еленкин заведует фитопатологической станцией. В этот период он публикует работы по болезням крыжовника, хвойных пород, луковиц тюльпанов, совместно со своим учеником и мужем своей сестры И.А. Олем.

За плодотворный труд и совокупность работ по споровым растениям в 1908 г. А.А. Еленкин награжден золотой медалью им. Великого князя Александра Михайловича Императорским обществом естествоиспытателей.

В 1913 г. гербарий был преобразован в Институт споровых растений и с этого года А.А. Еленкин работает здесь вначале в должности заведующего, а с 1932 г. и до конца своих дней—старшего ученого-специалиста.

В 1919 г. Еленкин становится преподавателем Петроградского университета, где он организовал специальный альгологический практикум, читал курс альгологии, а в дальнейшем вел большой практикум и семинар по мхам и лишайникам. Став сотрудником университета А.А.

Еленкин привлек к работе ряд студентов. Одним из первых был Афанасий Николаевич Данилов, который выпустил цикл работ по пигментам и клеточным включениям у водорослей, по биологии водорослей — компонентов лишайников. После университета А.Н. Данилов продолжил работать с Еленкиным и занимался экспериментальной физиологией водорослей и лишайников. Также учениками Еленкина становятся участники студенческого кружка Всеволод Павлович Савич и Леонтий Григорьевич Раменский. Савич посвятил себя изучению лишайников, Раменский — геоботанике и экологии растений.

В 1920-х параллельно с научной деятельностью А.А. Еленкин работает в Гидрологическом институте, занимает должность профессора кафедры при сельскохозяйственных Каменноостровских курсах (1919-1921), руководит экскурсиями Павловской экскурсионной станции (1919-1930). В этот период у А.А. Еленкина появилось несколько учеников. Одной из них стала Лидия Ивановна Савич-Любицкая. Начав работать как препаратор по разбору коллекции Камчатской экспедиции она освоила определение мхов и стала ведущим специалистом по этой группе в России. Впоследствии Лидия Ивановна воспитала плеяду российских бриологов, которые явились основателями региональных школ.

Впервые свое пристальное внимание водорослям А.А. Еленкин уделяет в работе по изучению морских экосистем (1906), но поворотным моментом к углубленному изучению пресноводных и наземных водорослей стала обработка коллекции, собранная в Камчатской экспедиции (1908-1909) и опубликованная в 1914 г. В ней А.А. Еленкин уделил особое внимание термофильным видам. Заинтересовавшись всеми группами водорослей, в дальнейшем он сосредотачивает свое внимание на синезеленых и посвятил все силы их изучению. Одной из учениц Еленкина, связавших свою профессиональную деятельность с альгологией, была Екатерина Константиновна Косинская. Она начала работать под руководством Еленкина в 1918 году, пройдя у него большой практикум в университете. Е.К. Косинская внесла большой вклад в обработку Scytonemataceae для монографии «Синезеленые водоросли СССР».

С изучения синезеленых водорослей началась научная карьера двух учеников Еленкина — Владимира Ивановича Полянского и Максимилиана Максимилиановича Голлербаха, которые вступили на трудовой путь в 1920 г. на Павловской экскурсионной станции, будучи 14-летними школьниками. Оба стали работать с Еленкиным и выросли в прекрасных известнейших ученых, внесших огромный вклад в альгологию. М.М. Голлербах рассказывал, что налета водорослей, который он соскоблил с железной крыши во время совместной с Еленкиным экскурсии в Павловском парке оказалось достаточным, чтобы на всю жизнь приковать его к водорослям (Штина, Гецен, 1997).

В 1934 г. Еленкину присуждают степень доктора биологических наук без защиты диссертации, в 1939 — утверждают в звании профессора по специальности «Ботаника».

Работая в Ботаническом саду и Ботаническом институте, Александр Александрович выступал редактором многочисленных периодических изданий, издал 279 научных работ.

В 1942 г. Еленкин вместе с большинством сотрудников БИНа был эвакуирован из Ленинграда в Казань. 19 апреля 1942 г. на 69 году Александр Александрович ушел из жизни. В некрологе В.П. Савич пишет: «Лета, здоровье и жизненные привычки А.А. не дали ему сил перенести временные невзгоды беженца... ушел от нас большой человек, всесторонне образованный, одержимый жаждой научного труда и научной деятельности» (Савич, 1944).

Влияние Еленкина на дальнейшее развитие отечественной альгологии не прекратилась, и его ученики сумели довести до издания третий том монографии по синезеленым водорослям, а также издать на ее основе «Определитель пресноводных водорослей СССР» (1953).

Как мы видим сегодня — творчество Еленкина продолжает быть востребованным и приносить пользу все новым и новым поколениям альгологов, а это лучший «знак качества» трудов большого ученого.

Липшиц С.Ю. (1950): *Русские ботаники. Биографо-библиографический словарь.* — М. — Т. 3. — С. 244–256.

Титов А. Н. (2008): Профессор А. А. Еленкин — основатель лихенологической школы России — Фундаментальные и прикладные проблемы ботаники в начале XXI века: Материалы всероссийской конференции (Петрозаводск, 22—27 сентября 2008 г.). Часть 2: Альгология. Микология. Лихенология. Бриология. — Петрозаводск: Карельский научный центр РАН. — С. 246-249.

Савич В. П. (1944): Памяти проф. А. А. Еленкина (1873—1942). *Советская ботаника*. 1: 60-63. Штина Э.А., Гецен М.В. (1997): *Максимилиан Максимилианович Голлербах (к 90-летию со дня рождения)*. — Киров-Воркута, 1997. — 38 с.

С.Г. Аверина<sup>1</sup>, Н.Р. Колган<sup>1</sup>, Е.Ю. Полякова<sup>2</sup>, Е.В. Сенатская<sup>1</sup>, А.В. Пиневич<sup>1</sup>

# НОВЫЕ ТАКСОНЫ ОДНОКЛЕТОЧНЫХ ЦИАНОБАКТЕРИЙ ИЗ КОЛЛЕКЦИИ CALU CAHKT-ПЕТЕРБУРГСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА

S.G. Averina<sup>1</sup>, N.R. Kolgan<sup>1</sup>, E.Yu. Polyakova<sup>2</sup>, E.V. Senatskaya<sup>1</sup>, A.V. Pinevich<sup>1</sup>

## NEW TAXA OF UNICELLULAR CYANOBACTERIA FROM THE CALU COLLECTION OF ST. PETERSBURG STATE UNIVERSITY

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия, s.averina@spbu.ru <sup>2</sup>Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия, polyakova.e.yu@gmail.com

Род Synechocystis (Sauvageau, 1892) представлен мелкими одиночными одноклеточными цианобактериями сферической формы, лишенными чехлов или капсул, встречающимися местообитаниях, осуществляющими размножение бинарным со сменой двух последовательных перпендикулярных плоскостей. Типовым видом рода является S. aquatilis; в составе рода описано 24 вида, отличающихся по размерам клеток и экологии (Komárek, Anagnostidis, 1998; Guiry, Guiry, 2023). Ограниченный набор морфологических признаков, мелке размеры клеток затрудняют работу с данными объектами. Форма-род Synechocystis, рассматривающийся в «Руководстве Берги по систематике прокариот» (Castenholz, 2001), был разделен на три кластера, в соответствии с размерами клеток, физиологическими свойствами и особенностями генома. По результатам полифазного анализа представители кластера 1 позже были выделены в новый род Geminocystis (Korelusova et al., 2009), в составе которого описаны два вида: G. herdmanii и G. papuanica. Анализ последовательностей гена 16S pPHK и ITS рибосомного оперона для выборки из одиннадцати культивируемых штаммов, относящихся к различным видам рода Synechocystis (Juteršek et al., 2017), указывал на полифилетичность этого рода. Согласно современным геномным данным представители родов Synechocystis и Geminocystis входят в состав различных семейств (Microcystaceae и Geminocystaceae, соответственно) пор. Chroococcales (Strunecký et al., 2023). На основе анализа штаммов из коллекции CALU, морфологически сходных с представителями р. Synechocystis, нами был описан новый род Altericista, включающий три новых вида: A. lacusladogae, A. violacea и A. variichlora (Averina et al., 2021).

В результате работы с накопительными культурами из проб обрастаний и воды водоемов нами были выделены новые штаммы одноклеточных цианобактерий, относящиеся к родам Geminocystis и Altericista. Штаммы поддерживаются на жидкой и агаризованной (1,2%) минеральной среде BG11 при температуре 20-22°С и освещении лампами белого света интенсивностью 10 мкмоль·м $^{-2}$ ·с $^{-1}$ . Новые штаммы депонированы в коллекции CALU ресурсного центра «Культивирование микроорганизмов» (https://researchpark.spbu.ru/collection-ccemrus/1628-ccem-kollekciya-calu-rus) Научного парка Санкт-Петербургского государственного университета как Altericista sp. CALU 1939, CALU 1940, CALU 1942 и CALU 1943 и Geminocystis sp. CALU 1946.

Уровень сходства последовательности гена 16S pPHK штамма *Altericista* sp. CALU 1939 с последовательностями *A. lacusladogae* составляет 99,8%. Морфологические характеристики данного штамма, его пигментный состав и характер роста в лабораторных условиях в совокупности с результатами молекулярно-филогенетического анализа позволяют отнести штамм CALU 1939 к виду *A. lacusladogae*. Штаммы CALU 1940, CALU 1942 и CALU 1943 имели сходные морфологические характеристики с известными видами рода *Altericista*, однако уровень сходства их последовательностей 16S с данными из GenBank составлял 96,6–98,1%, что свидетельствует о возможной принадлежности этих штаммов к новым видам. При этом штаммы CALU 1940 и CALU 1942 имеют уровень взаимного сходства последовательностей, равный 99,5%, и могут рассматриваться как различные штаммы одного нового вида, а штамм CALU 1943, вероятно, относится к другому виду. Выделение двух новых предполагаемых видов в составе р. *Altericista* 

подтверждается результатами анализа последовательностей и вторичных структур участков ITS рибосомного оперона исследуемых штаммов.

Штамм *Geminocystis* sp. CALU 1946 морфологически сходен с другими штаммами p. *Geminocystis*, имеющимися в нашей коллекции (штаммы CALU 1334, 1759, 1794, 1801 и 1807), которые охарактеризованы нами как представители нового вида *G. urbisnovae* sp. nov. (Polyakova et al., 2023). Поскольку последовательность гена 16S pPHK штамма CALU 1946 имеет 98,93–99.39%-ный уровень сходства с перечисленными выше штаммами, он, вероятно, относится к тому же новому виду.

В настоящее время количество охарактеризованных видов в составе родов *Geminocystis* и *Altericista* невелико (два и три, соответственно). Полученные нами штаммы позволяют расширить представления о биологическом разнообразии данных объектов и , возможно, охарактеризовать новые виды одноклеточных цианобактерий.

- Averina, S., Polyakova, E., Senatskaya, E. & Pinevich, A. (2021): A new cyanobacterial genus *Altericista* and three species, *A. laculadogae* sp. nov, *A. violacea* sp. nov., and *A. variichlora* sp. nov., described using polyphasic approach. J. Phycol. 57: 1517–1529.
- Castenholz, R.W. (2001). Phylum BX. Cyanobacteria. In Boone, D.R., Castenholz, R.W. & Garrity, G.M. [Eds.] Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Springer-Verlag, New York, pp 473–487.
- Guiry, M.D. & Guiry, G.M. (2023): AlgaeBase. World-wide electronic publication. National University of Ireland, Galway. https://www.algaebase.org; searched on 14.05.2023.
- Juteršek, M., Klemenčič, M. & Dolinar, M. (2017): Discrimination between *Synechocystis* members (Cyanobacteria) based on heterogeneity of their 16S rRNA and ITS regions. Acta Chim. Slov. 64: 804–817.
- Korelusová, J., Kaštovský, J. & Komárek, J. (2009): Heterogeneity of the cyanobacterial genus *Synechocystis* and description of a new genus, *Geminocystis*. J. Phycol . 45: 928–37.
- Polyakova, E., Averina, S. & Pinevich, A. (2023): *Geminocystis urbisnovae* sp. nov. (*Chroococcal*es, Cyanobacteria): polyphasic description complemented with a survey of the family *Geminocystaceae*. Algae: under review.
- Strunecký, O., Ivanova, A. P. & Mareš, J. (2023): An updated classification of cyanobacterial orders and families based on phylogenomic and polyphasic analysis. *J. Phycol.* 59: 12–51.

### С.В. Александров<sup>1,2</sup>, Ю.А. Горбунова<sup>2</sup>

### ВОЗДЕЙСТВИЕ ЦИАНОБАКТЕРИАЛЬНЫХ «ЦВЕТЕНИЙ» НА ПРИБРЕЖНУЮ ЗОНУ В ЛАГУННОЙ ЭКОСИСТЕМЕ КУРШСКОГО ЗАЛИВА

S.V. Aleksandrov<sup>1,2</sup>, J.A. Gorbunova<sup>2</sup>

## IMPACT OF CYANOBACTERIAL «BLOOMS» ON THE COASTAL ZONE IN CURONIAN LAGOON ECOSYSTEM

¹Атлантический филиал ФГБНУ «ВНИРО», Калининград, Россия, hydrobio@mail.ru ²Институт океанологии им. П. П. Ширшова РАН, Москва, Россия, julia\_gorbunova@mail.ru

Куршский залив — крупнейшая лагуна Европы (площадь 1584 км², объем 6,2 км³, средняя глубина 3,8 м), отделенная от Балтийского моря косой, где из-за слабого водообмена с морем и большого стока р. Неман характерны преимущественно пресноводные условия (Ferrarin et al., 2008). Залив имеет важное рыбохозяйственное и рекреационное значение, в частности, на Куршской косе, отделяющей залив от моря, расположен национальный парк «Куршская коса» (список Всемирного наследия ЮНЕСКО). Прибрежная зона несет важнейшую функцию в поддержании экологического состояния лагуны. Обширное мелководье и эвтрофное состояние вод создают благоприятные условия для развития прибрежно-водной растительности. Заросли тростника обыкновенного и камыша озерного могут распространяться на расстояние до 150 м вглубь залива, формируя своеобразные прибрежные экосистемы, которые играют важную роль для икрометания и нагула молоди и взрослых рыб (плотва и другие).

Значительная внешняя биогенная нагрузка с речным стоком, а также внутриводоемные процессы, связанные с накоплением органических соединений, ведут к сильному эвтрофированию вод. По уровню первичной продуктивности Куршский залив соответствует гипертрофному статусу и относится к наиболее эвтрофным водоемам Европы : первичная продукция составляет 360-620 г  $C/(M^2 \cdot \Gamma O Z)$ , а среднее за вегетационный период содержание хлорофилла «а» (Xл) - 36-190 мг/м³ (Александров, 2010). В заливе ежегодно наблюдается массовое развитие

цианобактерий (Aphanizomenon flos-aquae Ralfs ex Bornet & Flahault, Planktothrix agardhii (Gomont) Anagnostidis & Komarek, Microcystis aeruginosa (Kützing) Kützing и других), приводящее к длительному «цветению» воды, которое оказывает неблагоприятное воздействие на экосистему водоема (Александров, 2009; Aleksandrov et al., 2018; Pilkaityte, Razinkovas, 2007). Для водоема характерна значительная межгодовая изменчивость показателей трофического статуса, в частности концентрации. Наиболее высокие величины Хл и первичной продукции этих показателей характерны в периоды развития цианобактерий до уровня «гиперцветения» и соответствуют годам наибольшего летнего прогрева воды (выше 20-22°C) (Александров, 2010).

Целью работы было изучить воздействие цианобактериальных «цветений» на прибрежную зону, сопоставив годы, которые характеризовались «гиперцветенем» воды (2014, 2015 гг.) и его отсутствием (2022 г.). Прибрежная зона исследовалась ежемесячно (январь-декабрь). Пробы отбирались на 2 точках (у берега в бухте, отделенной зарослями макрофитов (глубина 0,8 м), и на свале глубин в 200 м от берега (глубина 3,0 м) в районе научно-экспериментальной базы «АтлантНИРО» в национальном парке «Куршская коса».

В 2014 и 2015 г. было «гиперцветение» воды, при котором средние для российской акватории величины Хл (как показателя обилия фитопланктона) достигали 136-179 мкг/л, соответствуя гипертрофному уровню (> 100 мкг/л). В южной части (российская акватория) ветровой фактор, определяющий гидродинамические процессы. режим—основной оказывает значительное влияние на локализацию нитчатых цианобактерий (Aphanizomenon flos-aquae, Planktothrix agardhii). В частности, в сентябре 2014 и 2015 г., их скопление было в западной части залива из-за восточного ветра, сила которого (5-7 м/с) сформировала ветровые течения и позволила не только аккумулировать цианобактерии, но и преодолеть барьер из зарослей макрофитов. В результате у Куршской косы концентрация Хл превышала 200 мкг/л, а у берега в небольшой бухте достигла 690 мкг/л. Биомасса фитопланктона в прибрежной зоне Куршской косы в сентябре 2015 г. была в среднем 163 г/м<sup>3</sup>, достигая 433 г/м $^3$ , и основу скопления составлял вид Aphanizomenon flos-aguae (148-420 г/м $^3$ ) (Герб и др., 2016). При скоплении цианобактерий в сентябре 2014 и 2015 гг. резко ухудшились гидрохимические показатели (БПК $_{5}$  до 52-76 мг/л, N-NH $_{4}^{+}$  1703-2896 мкг/л), многократно превышая ПДК для рыбохозяйственных водоемов и для рекреационного водопользования, и сформировались анаэробные условия ( $O_2$  0-0,2 мг/л), ведущие к гибели гидробионтов. Наблюдаемые неблагоприятные условия, во многом, обусловлены слабым водообменном прибрежных зон, заросших прибрежноводной растительностью с открытой акваторией залива. «Гиперцветение» вод на всей акватории может наблюдаться до конца октября. Однако у берега, прежде всего в небольших бухтах, образованных зарослями прибрежно-водной растительности до зимы, сохраняются высокие биомассы цианобатерий, которые скопились в период «цветения» воды и постепенно разлагаются. Например, в ноябре 2015 г. гидрохимические показатели (БПК $_{5}$ , N-NH $_{4}^{+}$ ) превышали ПДК.

Рыбохозяйственная и рекреационная опасность возрастает, учитывая, что виды цианобактерий, образующие альготоксины, включая *Microcystis aeruginosa, Planktothrix agardhii*, создают высокую биомассу в Куршском залива. В частности, в сентябре 2015 г. в прибрежной зоне биомасса *Planktothrix agardhii* достигала 6,7 г/м³, а *Microcystis* sp. — 5,0 г/м³ (Герб и др., 2016). У берега полуразложившиеся массы цианобактерий, содержат очень высокие концентрации микроцистинов (до 154 мкг/л), которые могут быть 30-300 раз выше, чем в воде залива (Sulcius et al., 2015) и многократно превышать рекомендации воз.

В последние годы уровень развития цианобактерий в Куршском залива снижается, в частности, в 2022 г. не наблюдалось «гиперцветения» воды. Средние за год концентрации Хл в разных районах (35-62 мкг/л) были в 2-3 раза ниже среднемноголетней величины за 2000-2021 гг., а минимальные величины отмечались в западном районе вдоль Куршской косы. Отсутствие «гиперцветения» вод в 2022 г. положительно сказалось на прибрежной зоне, где не происходило скопления и разложения цианобактерий и гидрохимические показатели были ниже ПДК. Прибрежная зона характеризуется благоприятными условиями для рыбохозяйственного (нерест рыб и развитие молоди) и рекреационного использования, в том числе в районе национального парка «Куршская коса».

Вместе с тем, сохраняющаяся в условиях высокого эвтрофирования вод, возможность «гиперцветения» воды и скопление цианобактерий в прибрежной зоне представляет высокий риск не только для жизнедеятельности гидробионтов, но и здоровья человека, в том числе при рекреационном использовании прибрежных территорий Куршского залива.

- Александров С.В. (2009): Влияние «цветения» синезеленых водорослей на экологическое состояние Куршского залива. *Вода: химия и экология* 4: 2—6.
- Александров С.В. (2010) Влияние климатических изменений на уровень эвтрофирования Куршского залива. Вестник Российского государственного университета им. И. Канта 1: 49—57.
- Герб М.А., Полунина Ю.Ю., Ланге Е.К. и др. (2016). Характеристика биологических сообществ литорали западного побережья Куршского залива по данным гидробиологического мониторинга в 2015 году. Проблемы изучения и охраны природного и культурного наследия национального парка «Куршская коса» 12: 97—117.
- Aleksandrov S., Krek A., Bubnova E., Danchenkov A. (2018): Eutrophication and effects of algal bloom in the south-western part of the Curonian Lagoon alongside the Curonian spit. *Baltica* 31 (1): 1-12. doi. org/10.5200/baltica.2018.31.01
- Ferrarin C., Razinkovas A., Gulbinskas S. et al. (2008): Hydraulic regime-based zonation scheme of the Curonian Lagoon *Hydrobiologia* 611 (1): 133—146. doi.org/10.1007/s10750-008-9454-5.
- Pilkaitytë R., Razinkovas A. (2007): Seasonal changes in phytoplankton composition and nutrient limitation in a shallow Baltic lagoon. *Boreal Environmental Research* 12 (5): 551—559.
- Sulcius S., Pilkaitytė R., Mazur-Marzec H. et al. (2015): Increased risk of exposure to microcystins in the scum of the filamentous cyanobacterium Aphanizomenon flos-aquae accumulated on the western shoreline of the Curonian Lagoon. Marine Pollution Bulletin 99 (1–2): 264—270. doi.org//10.1016/j. marpolbul.2015.07.057.

### Н.А. Андреева

## ЦИАНОБАКТЕРИИ ГЛУБОКОВОДНОГО БЕНТОСА ПРИБРЕЖНОЙ АКВАТОРИИ КРЫМА

N.A. Andreeva

#### DEEP-SEA BENTHOS CYANOBACTERIA IN THE CRIMEA COASTAL WATERS

Институт природно-технических систем, Севастополь, Россия

Цианобактерии наряду с диатомовыми водорослями являются типичными представителями донной альгофлоры морской биоты. В афотической бескислородной зоне литоральных осадков, где концентрация биогенных элементов повышена, бентосные микроводоросли способны переходить на гетеротрофное питание и активно развиваться. Цианобактерии наиболее приспособлены к этим условиям, так как по своей природе способны к смешанному питанию. Распределение морских бентосных водорослей обусловлено, главным образом, температурным фактором (Камнев, 2013). Вместе с тем, выявлена высокая степень пространственной неоднородности видового состава микрофитобентоса (Бондаренко, 2017), глубина обитания фототрофов при этом в разных морях неодинакова (Камнев, 2013). В микрофитобентосе Чёрного моря одной из ведущих групп также являются Суапоргокагуота (Микроводоросли Черного моря...., 2008). В целом считается, что исследования глубоководного бентоса черноморского батиаля являются перспективными в области экологии (Zaitsev, Polikarpov, 2008). Большое научное значение имеет изучение бентосных цианобактерий в качестве источника для получения новых противолейкозных (Oftedal et al., 2010), антимикробных и антивирусных препаратов (Лось, 2018), а также других биологически активных веществ.

Целью данной работы было изучение родового состава культивируемых цианобактерий в образцах грунта черноморского батиаля с глубины более 40 м в различные сезоны.

Образцы грунта для исследования культивируемых форм бентосных цианобактерий были взяты в различных зонах (литоральной и зоне свала глубин) Черного моря в течение 14-и экспедиций на судне «Профессор Водяницкий», проводимых в различные сезоны 2019−2022 гг. Всего было исследовано 117 образцов грунта (74 были взяты с глубины 40−100 м, 28 − с глубины 100−1000 м и 15 образцов — с глубины >1000 м). Для выявления культивируемых цианобактерий в исследуемых образцах, по 0,1 г грунта вносили в пробирки с 10 мл жидкой модифицированной среды Громова №6, приготовленная на морской воде. Культивирование образцов осуществлялось в течение 30−60 суток при искуственном освещении и комнатной температуре в светостате. Для изучения морфологии цианобактерий в прижизненных препаратах

использовали световой микроскоп Levenhuk 740T при увеличении х 400. Фотографирование культур проводилось при помощи цифровой насадки с использованием соответствующей компьютерной программы Levenhuk ToupView и дальнейшей обработкой изображений в программе Adobe Photoshop CS3 Extended. Таксономическую принадлежность микроводорослей устанавливали при помощи определителей (Komárek, Anagnostidis, 1998, 2005).

Лабораторное культивирование образцов грунта с глубины до 40-100 м выявило наличие разнообразных цианобактерий, принадлежащих к девяти родам четырёх порядков: Synechococcales (Synechococcus Nägeli 1849; Cyanodictyon Pascher 1914; Aphanocapsa Nägeli), Chroococcales (Microcystis Kützing 1833; Aphanothece Nägeli 1849; Chroococcus Nägeli 1849; Rhabdoderma Schmidle & Lauterborn), Oscillatoriales (Pseudoanabaena Lauterborn 1915) и гетероцистным цианобактериям порядка Nostocales (Nostoc Vaucher 1888 ex Bornet and Flahaul и Nodularia Mertens 1822). При этом количество форм по сезонам колебалось от 5 до 8 единиц. Наибольшее разнообразие отмечено в зимний и весенний период, а наименьшее — в летние месяцы. В целом, бентос на глубине от 40 до 100 м отличается значительным родовым разнообразием цианобактерий.

В образцах грунта, отобранных на глубинах 100-1000 м, в сероводородной зоне, при культивировании на питательной среде родовое разнообразие цианобактерий несколько снижалось и колебалось в зависимости от сезона от 2 до 7 единиц с максимумом в летний период. Необходимо отметить, что глубоководные цианобактерии часто имели насыщенную фиолетовую окраску, вероятно, вследствие содержания большого количества в клетке фикобилинового пигмента фикоэритрина. Его максимум поглощения световой энергии 565 нм (зелёная область спектра). Именно зелёные лучи глубже всего проникают через толщу воды и поэтому при освещении зеленым светом преимущество имеют цианобактерии с преобладанием фикоэритрина (Stomp et al., 2004). При культивировании на питательной среде 15-ти самых глубоководных образцов (> 1000 м) были выявлены цианобактерии из рода *Synechococcus*, но только в шести из них и в весенний период, а в остальных девяти случаях рост отсутствовал.

Таким образом, в результате инкубации глубоководных образцов грунта на среде Громова №6 были выявлены цианобактерии, обитающие в экстремальных условиях. Считается, что такие организмы обладают уникальными биохимическими и физиологическими свойствами, которые можно использовать в различных областях науки (в экологических исследованиях — для оценки уровня загрязнения окружающей среды, в фармакологии — для создания новых перспективных лекарств, а также в качестве «банка» хранения генофонда организмов). В процессе работы получены более ста накопительных культур, из которых изолированы 26 альгологически чистых штаммов цианобактерий. В дальнейшем работа в этом направлении будет продолжена.

- Бондаренко А.В. (2017): Микроводоросли бентоса крымского прибрежья Азовского моря. Автореф. канд. дис. Севастополь. 18 с.
- Камнев А.Н. (2013): Экологическая физиология водных фототрофных организмов. Часть 1. Водные оксигенные фототрофы. Вопросы современной альгологии (Issues of modernal gology) algology. ru. 1 (3). C. URL: http://algology.ru/93
- Лось Д. (2018): Биологически активные вещества из цианобактерий. https://postnauka.ru/ video/87756
- Микроводоросли Черного моря: проблемы сохранения биоразнообразия и биотехнологического использования. (2008). Под ред. Ю.Н. Токарева, 3.3. Финенко, Н.В. Шадрина; НАН Украины, Институт биологии южных морей. Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика. 454 с.
- Komárek J., Anagnostidis K. (1998): Cyanoprokaryota 1. Chroococcales. In: Süsswasserflora von Mitteleuropa 19/1 / Ettl H., Gärtner G., Heynig H., Mollenhauer D. (eds). Gustav Fischer, Jena-Stuttgart-Lübeck-Ulm. 548 p.
- Komárek J., Anagnostidis K. (2005): 2. Oscillatoriales. In: Süsswasserflora von Mitteleuropa 19/2 / Büdel B., Krienitz L., Gärtner G., Schagerl M. (eds). Elsevier/Spektrum, Heidelberg,. 759 p.
- Oftedal L., Selheim F., Wahlsten M., Sivonen K., Døskeland S.O., Herfindal L. (2010): Marine benthic cyanobacteria contain apoptosis-inducing activity synergizing with daunorubicin to kill leukemia cells, but not cardiomyocytes. Mar Drugs. 8(10): 2659-72. doi: 10.3390/md8102659.
- Stomp M,, Huisman J., de Jong F., et al. (2004): Adaptive divergence in pigment composition promotes phytoplankton biodiversity. Nature 432: 104–107.
- Zaitsev Y.P., Polikarpov G.G. (2008): Recently Discovered New Biospheric Pelocontour Function in the Black Sea Reductive Bathyal Zone. J. Black Sea / Mediterranean Environment. 14: 151–165.

#### О.П. Баженова, Е.А. Молибога

### ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ФИТОМАССЫ LIMNOSPIRA FUSIFORMIS (CYANOPROKARYOTA) ИЗ ОЗ. СОЛЁНОГО (Г. ОМСК) В ПРОИЗВОДСТВЕ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

O.P. Bazhenova, E.A. Moliboga

# PROSPECTS FOR USING PHYTOMASS OF *LIMNOSPIRA FUSIFORMIS* (CYANOPROKARYOTA) FROM THE SOLENOYE LAKE (OMSK) IN FOOD PRODUCTION

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Омский государственный аграрный университет имени П.А.Столыпина», Омск, Россия

В гипергалинном щелочном озере Солёном г. Омска обитает цианопрокариота *Limnospira fusiformis* (Voronichin) Nowicka-Krawczyk, Mühlsteinová et Hauer 2019, вызывающая в летне-осенний период «цветение» воды (Баженова, Коновалова, 2012).

На основании молекулярно-генетических и физиологических исследований была дана полная характеристика генома и физиологических особенностей штамма, названного 09.13F. Состав белков, фотосинтетических пигментов и жирных кислот в фитомассе штамма 09.13F, выращенного при разных температурах, продемонстрировал его потенциальную пригодность для выращивания в зоне умеренного климата. Штамм 09.13F является первым представителем новой клады III на основе гена 16S рРНК, геномная последовательность которого доступна в общедоступных базах данных (ПКГДО0000000) (Misztak et al., 2021).

Разностороннее изучение *L. fusiformis* из озера Солёного позволило определить запасы фитомассы в водоеме, оценить ее кормовую и биологическую ценность (Баженова и др., 2012), дать токсикологическую оценку и установить возможности использования фитомассы в качестве биодобавки при кормлении животных (Бойко и др., 2016). Важное направление дальнейших работ по изучению штамма 09.13F. — возможности использования фитомассы в производстве продуктов для питания человека.

Сообщение основано на результатах исследований фитопланктона озера и фитомассы лимноспиры в 2022 г. Отбор и обработка проб фитопланктона осуществлялась общепринятыми методами. В фитомассе определяли содержание протеина, золы, тяжелых металлов (Cd, Cu, Pb, Zn, Hg) и мышьяка, витаминов и микотоксинов, удельную активность радионуклидов (<sup>90</sup>Sr, <sup>137</sup>Cs). Исследования проводили по гранту Российского научного фонда № 22-26-20108, https://rscf.ru/project/22-26-20108/ и в рамках госбюджетной темы «Фитопланктон и экологическое состояние водных объектов Обь-Иртышского бассейна», рег. № НИОКТР 121031900167-5.

Вода озера относится к слабо-щелочным солоноватым водам, классу сульфатных вод, группе кальция, II типу. По большинству гидрохимических показателей установлено превышение ПДК, например, показатель химического потребления кислорода (ХПК) превышен в 12 раз.

Трофический статус озера соответствует категории политрофных вод, качество воды — 4 классу «загрязненные воды», разряду «сильно загрязненная».

Массовая доля протеина (в пересчете на с.в.) в фитомассе достигает 69.7%, отмечено высокое содержание витаминов C,  $B_1$ ,  $B_2$ , E. Содержание тяжелых металлов, мышьяка, микотоксинов и радионуклидов не превышает допустимых для производства пищевых продуктов значений. В совокупности эти показатели обеспечивают высокую кормовую ценность фитомассы лимноспиры и открывают широкие перспективы ее использования в производстве пищевых продуктов.

Физико-химические показатели водной среды озера по сравнению с предыдущими исследованиями (2007–2010 гг.) существенно изменились. Активная реакция воды снизилась

(рH=8,30), из класса хлоридных вод озеро перешло в класс сульфатных вод. Озеро обмелело, максимальная глубина упала с 2.0 м до 1.25 м, вода приобрела гнилостный запах и низкую прозрачность (40 см).

Видовое богатство фитопланктона снизилось катастрофически — на два порядка. В 2007-2010 гг. в фитопланктоне озера было идентифицировано (по уточненным данным с учетом современных таксономических преобразований) 111 видовых и внутривидовых таксонов, включая номенклатурный тип вида, из 6 отделов, в том числе: Cyanoprokaryota — 31, Cryptophyta — 5, Chrysophyta — 5, Euglenophyta — 7, Bacillariophyta — 38, водорослей — 27. Структурные показатели фитопланктона озера также существенно снизились: численность более чем в 4 раза, а биомасса — на порядок. Поскольку видовое богатство и структура фитопланктона являются одним из основных показателей состояния водных экосистем, можно констатировать значительное ухудшение экологического состояния озера Солёного. Вероятно, этот процесс связан не только с усилением антропогенного воздействия на городской водоем, но и с наступившим повышением температуры воздуха и др., (Шаманин 2014) и очередным засушливым периодом в регионе Voropay, 2018).

Наиболее негативным последствием ухудшения экологического состояния озера является снижение в нем вегетации ценного возобновляемого биоресурса *L. fusiformis*. Для сохранения этого уникального вида необходимо усилить природоохранные меры и перевести озеро Солёное в категорию особо охраняемых природных территорий регионального значения.

- Баженова О.П., Коновалова О.А. (2012): Фитопланктон озера Соленого (г. Омск) как перспективный источник биоресурсов. *Сибирский экологический журнал* 3: 375–382.
- Баженова О.П., Байсова Б.Т., Коновалова О.А., Исергепова А.Б. (2012): Элементный состав, кормовая ценность и запасы фитомассы артроспиры (Cyanoprokaryota) в озере Соленом (г. Омск) // Эколого-экономическая эффективность природопользования на современном этапе развития Западно-Сибирского региона: мат-лы IV междунар. науч.-практ. конф. (Омск, 26–27 апреля 2012 г.). Омск: Изд-во ОмГПУ. С. 186–190.
- Бойко Т.В., Баженова О.П., Коновалова О.А., Костромитина К.О., Водолага В.С. (2016): Экспериментальное обоснование использования артроспиры (Cyanobacteria) из озера Соленое (г. Омск) как биологически активной добавки // Экологические проблемы региона и пути их решения: мат-лы национальной науч.-практ. конф. с междунар. участием, проводимой в рамках Сибирского экологического форума «Эко-ВООМ» (13–15 октября 2016 г.). Омск: ЛИТЕРА. С. 63–67.
- Шаманин В.П. Моргунов А.И., Петуховский С.Л. и др. (2014): Потепление климата и урожайность яровой мягкой пшеницы в условиях южной лесостепи Западной Сибири // Современные проблемы науки и образования 1.— Электрон. журн. Режим доступа: http://www.science-education.ru
- Misztak A.E., Waleron M., Furmaniak M., Waleron M.M., Bazhenova O., Daroch M., Waleron K.F. (2021): Comparative Genomics and Physiological Investigation of a New *Arthrospira/Limnospira* train 09.13F Isolated from an Alkaline, Winter Freezing, Siberian Lake // *Cells* 10(12): 3411–3436. DOI:10.3390/cells10123411.
- Ryazanova A.A., Voropay N.N. (2018): Periodicity of atmospheric droughts in Southern Siberia in the late XX—early XXI centuries. https://doi.org/10.5281/zenodo.1246975

Ю.В. Батаева<sup>1</sup>, М.А. Синетова<sup>2</sup>, Л.Н. Григорян<sup>1</sup>

### БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ЦИАНОБАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ЭКОСИСТЕМ АСТРАХАНСКОЙ ОБЛАСТИ

Y.V. Bataeva<sup>1</sup>, M.A. Synetova<sup>2</sup>, L.N. Grigoryan<sup>1</sup>

# BIOTECHNOLOGICAL POSSIBILITIES OF CYANOBACTERIA ISOLATED FROM THE ECOSYSTEMS OF THE ASTRAKHAN REGION

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет им. В.Н. Татищева», Астрахань, Россия, aveatab@mail.ru

<sup>2</sup>ФГБУН «Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН», 127276, Москва, Россия, maria.sinetova@mail.ru

Аридный климат, природные ландшафты, техногенно и агрогенно преобразованные территории определяют экологические и физико-химические условия существования микроорганизмов, которые характеризуются высокой активностью. Наиболее адаптированными к таким условиям являются цианобактерии, которые заселяют все известные экологические

ниши, в том числе и экстремальные. Изучение функциональной активности цианобактерий является перспективным направлением для фундаментальных и прикладных исследований при использовании штаммов или их вторичных метаболитов, направленных на развитие органического земледелия, устойчивости природных и техногенных экосистем.

Для исследования свойств биотехнологически перспективных микроорганизмов на первом этапе из водных и почвенных экосистем и ризосфер растений Астраханской области выделяли циано-бактериальные сообщества и ранжировали их по номерам. Отбирали консорциумы, которые активно наращивали биомассу в лабораторных условиях. Культуру Anabaena sp., идентифицированную по фенотипическим и молекулярно-генетическим признакам, получили из сообщества ( $N^2$ ) на основе цианобактерий Anabaena, Oscillatoria, Phormidium, Gloeocapsa, Chroococcus, выделенного из аллювиальных луговых почв ясеневого леса.

Установили, что культуры почвенных цианобактерий не оказывали угнетающего воздействия на семена кресс-салата, пырея безкорневищного, томатов и хлопчатника. При создании условий недостатка влаги, наиболее выносливыми оказались растения, семена которых были обработаны цианобактериями.

Фунгицидной активностью по отношению к Fusarium culmorum, Fusarium sporotrichioides и Phythium ultimum обладали все исследуемые почвенные циано-бактериальные сообщества ( $N^2$ 2,  $N^1$ 1 (на основе родов Microcystis, Phormidium, Arthrospira),  $N^1$ 5 (на основе родов Oscillatoria, Phormidium, Microcystis, Gloeocapsa),  $N^2$ 1 (на основе рода Nostoc). По отношению к Alternaria tenuissima фунгицидной активностью обладали почвенные циано-бактериальные сообщества  $N^2$ 2,  $N^1$ 1,  $N^1$ 5. По отношению к Fusarium culmorum наибольшую зону ингибирования обнаружили у циано-бактериального сообщества  $N^1$ 11 (2,2 см), а наименьшую — у сообщества  $N^1$ 2 см. Исследования показали, что наиболее активным по отношению ко всем исследуемым микромицетам оказался водно-спиртовой экстракт цианобактерий Anabaena sp., который ингибировал рост всех исследуемых фитопатогенных микромицетов рода Fusarium с максимальной зоной задержки роста 2,5 см. Через 30 суток инкубирования наблюдали полное подавление роста микромицетов.

Выраженной антиоксидантной активностью обладал водный экстракт цианобактерий *Anabaena* sp. в объеме 20 мкл—39,3%, а также культуральная жидкость сообщества №21 36,1% и водно-спиртовый экстракт сообщества №2 в объеме 100 мкл 39,6%.

С целью получения биологических удобрений на основе цианобактерий разработали технологию получения и применения экспериментальных образцов на основе *Anabaena* sp. (Батаева, Дзержинская, 2017). Сырую и сухую биомассу цианобактерий для приготовления суспензии получали следующим образом. Цианобактерии *Anabaena* sp. культивировали в вихревом биореакторе при температуре 28°C в течение 5 суток при 60 об/мин с люминесцентной лампой (4000 кельвин). Посевной материал вносили в количестве 20 % от ее общего объема. За это время происходило максимальное наращивание биомассы—47 мг/м²/ч сухого вещества. Затем биомассу высушивали в термостате при температуре 37°C до постоянного веса и измельчали.

Разработанная технология заключается в том, что семена и растения томата, перца, хлопчатника перед высадкой в грунт обрабатывают суспензией цианобактерий *Anabaena* sp. с концентрацией 5 г сухой биомассы цианобактерий на 1 л воды в течение 1 часа и обеспечивают пролив под корень в фазу 2-4 настоящего листа и в фазу цветения и бутонизации растений. Культура цианобактерий хранится на среде BG-11. Результатом от использования цианобактерий является увеличение всхожести семян, повышение энергии роста, повышение урожайности растений, защита от фитопатогенов, оздоровление растений, обусловленное антиоксидантным эффектом цианобактерий *Anabaena* sp. в условиях аридного климата.

При изучении трансформации видов и устойчивости водных цианобактерий, выделенных из техногенных водоемов, к экстремальным значениям гидрохимических факторов обнаружили, что сообщества жизнеспособны при pH от 5 до 10. При pH 9 биомасса увеличилась на 44%. Оптимальной температурой развития сообщества является диапазон от 15°C до 20°C с доминированием видов рода *Phormidium*. Значительное увеличение биомассы сообществ обнаружили при концентрации фосфатов ( $K_2HPO_4$ ) 10 г/л—в 7 раз. Значительное увеличение биомассы обнаружили при концентрации солей 50 г/л при доминантах *Phormidium tenue* и *Phormidium fragile* в 23 раза.

Максимальный эффект использования циано-бактериальных сообществ для биодеградации компонентов сточной воды после посола рыбы (25 % NaCl) достигнут в варианте с сообществом №2 с эдификаторами Oscillatoria deflexa и Phormidium sp., в присутствии Oscillatoria animalis и Oscillatoria amphibian. Данные сообщества выделены из засоленного озера на территории гипсового месторождения. В результате исследования химических показателей контроля, а также сточной воды с внесенными циано-бактериальными культурами, активная реакция среды (рН) изменилась на один порядок в щелочную сторону с 5 до 6. Устойчивость пенообразования заметно уменьшилась в сточной воде с цианобактериями, в сравнении с контролем, что говорит о биодеградации органических веществ. Сухой остаток, характеризующий взвешенные вещества, максимально уменьшился с внесенным циано-бактериальным сообществом №2, составив 75,7 г/л, в отличие от контрольной сточной воды (98,5 г/л).

Таким образом, в ходе исследований свойств цианобактерий установили фитостимулирующую активность у всех исследуемых культур. Выявили активное антагонистическое действие циано-бактериальных сообществ №2, №11, №15, №21 и культуры *Anabaena* sp. на фитопатогенные грибы родов *Fusarium, Phythium, Alternaria.* Обнаружили антиоксидантную активность водных и почвенных культур цианобактерий. Выявили их устойчивость к экстремальным значениям гидрохимических факторов среды: рН, температуры, концентрации неорганического фосфора, солености. Изучение свойств цианобактерий дает основу для создания биоудобрений и биопрепаратов с целью эффективности и оздоровления агроэкосистем, биоремедиации техногенных экосистем, что имеет важное практическое значение.

Батаева Ю.В., Дзержинская И.С. (2017): Патент № 2634387 С2 Российская Федерация, МПК A01N 63/02. Способ стимуляции роста и развития растений, повышения урожайности и защиты от фитопатогенных грибов в Аридной зоне.—заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет».—№ 2015143855; заявл. 19.04.2017; опубл. 26.10.2017; Бюл. № 11.

#### Ю.М. Бачура

### ОБ ИЗУЧЕНИИ ПОЧВЕННЫХ ЦИАНОБАКТЕРИЙ В БЕЛАРУСИ

Y.M. Bachura

#### ON THE STUDY OF SOIL CYANOBACTERIA IN BELARUS

Гомельский государственный университет имени Франциска Скорины, Гомель, Беларусь, julia\_bachura@mail.ru

Общеизвестно, что цианобактерии являются обязательным компонентом наземных биогеоценозов и принимают активное участие в их функционировании, являясь экологически пластичными и широко распространенными представителями почвенной биоты. Сведения о составе почвенной цианобактериальной флоры Республики Беларусь немногочисленны, в основном сводятся к данным Э.Н. Ваулиной, Е.Е. Гаевского и полученным нами данным. Э.Н. Ваулиной изучены цианеи дерново-подзолистых почв Оршанского и Минского районов, торфяно-болотных – Пуховичского и Ивацевичского, аллювиально-луговых – Давид-Городокского районов (Ваулина, 1956, 1958). Е.Е. Гаевский исследовал цианобактерии дерново-подзолистых почв Борисовского района и газонов города Минска (Гаевский, Буховец, 2015; Гаевский, Малькова, 2021 и др.). Нами изучены цианобактерии антропогенно-преобразованных и некоторых лесных почв Гомельского региона (Бачура, 2016, 2019 и др.).

В работе обобщены результаты исследований почвенных цианобактерий Беларуси, выполнен их таксономический и экологической анализ. Систематическое положение объектов приведено в соответствии с альгологической базой данных Algaebase; жизненные формы – по системе Э.А. Штиной и М.М. Голлербаха.

Всего к настоящему времени в почвах Беларуси выявлено 86 видов и внутривидовых таксонов цианобактерий (Cyanobacteria). Обнаруженные виды принадлежат к 37 родам, 21 семейству, 8 порядкам класса Cyanophyceae.

В составе почвенной цианобактериальной флоры наиболее представлены порядки Oscillatoriales и Nostocales (по 30,2 % от общего числа видов), значителен вклад представителей

порядков Chroococcales (15,2 %) и Leptolyngbyales (10,4 %), меньшим долевым участием отличаются порядки Synechococcales, Gomontiellales, Coleofasciculales и Pseudanabaenales.

Анализ видовой насыщенности позволил установить спектр ведущих семейств: Oscillatoriaceae (17,4 %), Microcystaceae, Microcoleaceae (по 12,8 %), Aphanizomenonaceae (11,6 %) и Leptolyngbyaceae (9,2 %). Доля маловидовых семейств, представленных 1-5 видами и/или внутривидовыми таксонами, составила 27,9 %. В спектре родов преобладают *Phormidium* (11), *Nostoc* (6), *Cylindrospermum*, *Microcystis*, *Leptolyngbya* (по 5 видов). Роды, включающие 1-2 вида, составляют 33,7 %.

В экологическом отношении среди цианобактерий установлено доминирование эдафофильных представителей (98,8 %), доля амфибиальных видов составляет 1,2 %. В спектре экобиоморф преобладают способные к образованию слизи виды С-жизненной формы (44,2 %) и устойчивые против засухи представители Р-формы (43,0 %). Менее представлены цианобактерии  $M-\mu$  и Ch-жизненных форм (7,0 % и 4,6 % соответственно). Доля видов-азотфиксаторов в составе цианобактериальной флоры Беларуси – 27,9 %.

Проведенное обобщение сведений о цианобактериях почв Беларуси указывает на их недостаточную изученность как территориально, так и в таксономическом и экологическом аспектах, и на необходимость расширения и актуализации исследований цианобактериальной флоры Республики Беларусь.

- Бачура Ю. М. (2016): Почвенные водоросли и цианобактерии антропогенно-преобразованных почв (на примере Гомельского региона). Чернигов: Десна Полиграф, 156 с.
- Бачура Ю. М. (2019): Структура альгоцианобактериальных сообществ почв после низового пожара. Вестник Гродненского государственного университета им. Я. Купалы. Т. 9, № 3: 34–42.
- Ваулина Э.Н. (1956): Состав и распределение водорослей в некоторых характерных почвах БССР : дис. ... канд. биол. наук. Л., 264 с.
- Ваулина Э.Н. (1958): Основные черты флоры водорослей некоторых почв Беларуси. Весці АН БССР. Сер. біял. навук. № 1: 5–15.
- Гаевский Е.Е., Буховец В.В. (2015): Структура водорослевых сообществ дерново-подзолистой оптимизированной песчаной почвы. Вестник БГУ, сер. 2, №1: 59–64.
- Гаевский Е.Е., Малькова К.А. (2021): Альгофлора газонов г. Минска (на примере юго-западной части города). Актуальные проблемы изучения и сохранения фито и микобиоты. Материалы IV международной научно-практической конференции, приуроченной к 100-летию кафедры ботаники. Минск: 125—129.

А.М. Бозиева<sup>1</sup>, М.Х. Хасимов<sup>2</sup>, Р.А. Волошин<sup>1</sup>, М.А. Синетова<sup>1</sup>, Е.В. Куприянова<sup>1</sup>, С.К. Жармухамедов<sup>2</sup>, С.И. Аллахвердиев<sup>1,2</sup>

### ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ ВЫДЕЛЕНИЯ ВОДОРОДА У ЦИАНОБАКТЕРИЙ

A.M. Bozieva <sup>1</sup>, M.Kh. Khasimov <sup>2</sup>, R.A. Voloshin <sup>1</sup>, M.A. Sinetova <sup>1</sup>, E.V. Kupriyanova <sup>1</sup>, S.K. Zharmukhamedov <sup>2</sup>, S.I. Allakhverdiev <sup>1,2</sup>

#### INVESTIGATION OF THE MECHANISMS OF HYDROGEN PRODUCTION BY CYANOBACTERIA

 $^{1}$ Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup>Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, Россия

Рост численности населения и мировых потребностей в энергии, ограниченность запасов ископаемого топлива на планете, а также негативные климатические изменения диктуют необходимость поиска альтернативных источников энергии. Одним из таких потенциально перспективных источников энергии является молекулярный водород ( $\rm H_2$ ).  $\rm H_2$  может быть получен различными путями, среди которых наиболее предпочтительным является биологический путь. Генерировать водород способны микроорганизмы различных групп: зеленые микроводоросли, цианобактерии, анаэробные фотосинтезирующие и бродильные бактерии (Khetkorn et al., 2017).

В данной работе исследована способность генерировать водород штаммов цианобактерий: Dolichospermum sp. IPPAS B-1213, Cyanobacterium sp. IPPAS B-1200, Sodalinema gerasimenkoae IPPAS B-353 из коллекции цианобактерий и микроводорослей IPPAS ИФР РАН. Штамм Synechocystis sp. PCC 6803 GT-L был выбран в качестве контрольного варианта (Chongsuksantikul et al. 2014;

Kossalbayev et al., 2020). Поскольку при отсутствии кислорода цианобактерии способны переходить с фотосинтеза на производство водорода, анаэробные условия создавали продувкой аргоном. Для подавления фотосинтетической активности к культурам был добавлен диурон. Концентрацию накопленного  $H_2$  измеряли на газовом хроматографе («Экохром», Россия), оснащенном детектором по теплопроводности. Калибровку проводили по стандартному образцу искусственной газовой смеси водорода (3,06%) в азоте (ООО «Югра-ПГС», Россия).

Выбранные штаммы цианобактерий выделяли водород в анаэробных условиях на свету и в темноте, при участии ферментов нитрогеназы и двунаправленной гидрогеназы, как в ходе прямого, так и непрямого биофотолиза. Скорость выделения водорода варьировала в диапазоне значений от 0,01 мкмоль  $H_2$ (мг  $Xл^*u$ )-1 до 4,24 мкмоль  $H_2$ (мг  $Xл^*u$ )-1. Максимальные скорости выделения  $H_2$  для каждого штамма были следующие: для Synechocystis sp. PCC 6803 GT-L — 0,72 мкмоль  $H_2$ (мг  $Xл^*u$ )-1; S. gerasimenkoae IPPAS B-353 — 0,45 мкмоль  $H_2$ (мг  $Xл^*u$ )-1; Dolichospermum sp. IPPAS B-1213 — 4,24 мкмоль  $H_2$ (мг  $Xл^*u$ )-1; Cyanobacterium sp. IPPAS B-1200 — 0,22 мкмоль  $H_2$ (мг  $Xл^*u$ )-1. Добавление диурона положительно влияло на скорость выделения водорода. Универсального продуцента  $H_2$  (генерирующего водород и на свету, и в темноте) в ходе данного исследования выявлено не было, каждый штамм выделял водород либо в условиях искусственного освещения, либо в темноте. Полученные результаты соотносятся с литературными данными для других штаммов цианобактерий (Allahverdiyeva et al., 2010; Kossalbayev et al., 2020).

Дальнейшая работа в данном направлении позволит выделить наиболее перспективные микроорганизмы для получения Н<sub>2</sub> и повысить эффективность процесса.

Результаты получены в рамках государственного задания Минобрнауки и высшего образования Российской Федерации (1210330001361-4) и при поддержке Российского научного фонда (грант 22-44-08001).

- Khetkorn W., Rastogi R.P., Incharoensakdi A., Lindblad P., Madamwar D., Pandey A., Larroche C. (2017): Microalgal hydrogen production. *Bioresource Technology* 243: 1194–206.
- Kossalbayev B.D., Tomo T., Zayadan B.Z., Sadvakasova A.K., Bolatkhan K., Alwasel S., Allakhverdiev S.I. (2020): Determination of the potential of cyanobacterial strains for hydrogen production. *International Journal of Hydrogen Energy* 45(4): 2627-39.
- Chongsuksantikul A., Asami K., Yoshikawa S., Ohtaguchi K. (2014): Hydrogen production by anaerobic dark metabolism in *Synechocystis* sp. strain PCC 6803-GT: effect of monosaccharide in nitrate free solution. *Journal of Biochemical Technology* 5(3): 735-42.
- Allahverdiyeva Y., Leino H., Saari L., Fewer D.P., Shunmugam S., Sivonen K., Aro E-M. (2010): Screening for biohydrogen production by cyanobacteria isolated from the Baltic Sea and Finnish lakes. *International Journal of Hydrogen Energy* 35: 1117-27.

Н.В. Величко<sup>1</sup>, С.В. Смирнова<sup>2</sup>, А.Г. Павлечко<sup>1</sup>, М.П. Райко<sup>3</sup>

# АНТАРКТИЧЕСКИЕ ЦИАНОБАКТЕРИИ ВОДОЕМОВ ПОЛУОСТРОВА СТОРНЕС (ОАЗИС ЛАРСЕМАНН)

N.V. Velichko<sup>1</sup>, S.V. Smirnova<sup>2</sup>, A.G. Pavlechko<sup>1</sup>, M.P. Raiko<sup>3</sup>

# ANTARCTIC CYANOBACTERIA IN WATER BODIES OF STORNES PENINSULA (LARSEMANN OASIS)

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия, n.velichko@spbu.ru

<sup>2</sup>Ботанический институт им. В.Л. Комарова, Санкт-Петербург, Россия, ssmirnova@binran.ru

<sup>3</sup>Центр алгоритмической биотехнологии СПбГУ, Санкт-Петербург, Россия, m.rayko@spbu.ru

Изучение микробных сообществ особенно реликтовых экосистем Антарктиды актуально в связи с их потенциальным исчезновением на фоне ускоренного таяния ледников и увеличения антропогенной нагрузки на регион (Strugnell et al., Микроорганизмы являются формой основной жизни антарктических водоемов, в которых они успешно выживают в экстремальных условиях, благодаря способности формировать сложные альго-бактериальные консорциумы виде бентосных В

и прибрежных биопленок. Оксигенные фототрофные бактерии (цианобактерии), входящие в состав таких сообществ, часто выступают в качестве формирующего мат компонента, а также основного первичного продуцента органического вещества (Ellis-Evans et al., 1998; Sabbe et al., 2004; Taton et al., 2006; Taton et al., 2008; Gupta, 2021; Velichko et al., 2021). При этом всестороннего изучения их таксономического состава до сих пор не проводилось. Нами было предпринято комплексное исследование бентосных матов и биопленок водоемов оазиса Ларсеманн, включающее описание биологического разнообразия образцов *in situ* методами световой и лазерно-конфокальной микроскопии, 16S-метабаркодирования, а также молекулярно-генетической идентификации цианобактерий. Особое внимание было уделено сравнительному анализу биоразнообразия культивируемых и не культивируемых форм цианобактерий, а также вопросу их эндемизма.

Исследование антарктических микробиомов проведено нами на примере семи образцов матов и биопленок, собранных в прибрежной зоне небольших мелководных озер п-ова Сторнес оазиса Ларсеманн. Из образцов были получены препараты метагеномной ДНК, которые были амплифицированы с универсальными бактериальными праймерами Bakt-341F/805R (Sinclair et al., 2015). Ампликоны секвенировали методом высокопроизводительного секвенирования на Illumina MiSea. согласно рекомендациям фирмы-производителя. Биоинформатический анализ полученных данных проводили с использованием QIIME2 (Bolyen et al., 2019). Биологическое разнообразие природных консорциумов микроорганизмов визуализировали с помощью световой и лазерно-конфокальной микроскопии, а также флуоресцентной in situ гибридизации, с использованием универсальных и специфичных олигонуклеотидных зондов к генам 16S рРНК различных таксономических групп бактерий (Amann et al., 2001; Loy et al., 2003). Штаммы цианобактерий идентифицировали с учетом комплекса морфологических и молекулярногенетических признаков (Komarek, 2016).

помощью метагенетического анализа было установлено, что образцах антарктических микробиомов преобладают представители оксигенных фототрофов филы Cyanobacteriota (в среднем около 57% операционных таксономических единиц, ОТЕ). Среди них доминирующими видами являются представители порядков Leptolyngbyales (Phormidesmis priestleyi, Leptolyngbya frigida, Leptolyngbya antarctica, Leptolyngbya spp.), Pseudanabaenales (Pseudanabaena spp.), Oscillatoriales (Phormidium spp. и Phormidium priestleyi) и Nostocales (Nostoc spp., Calothrix sp.). В качестве минорного компонента в антарктических водных матах были отмечены одноклеточные цианобактерии пор. Synechococcales (Synechococcus spp., Gloeobacter spp.) и Chroococcales (преимущественно эндемичных и ранее не культивируемых формы). Среди гетеротрофных бактерий в антарктических консорциумах наиболее многочисленными оказались представители Proteobacteria (от 8 до 20% OTE), Bacteroidota (6-14% OTE), Planctomycetota (4-8% OTE), Actinobacteriota (2,5-3,5% OTE) и Acidobacteriota (~ 2,5%). В то же время, в некоторых образцах были обнаружены представители аноксигенных фототрофов: Chloroflexota (5-20% OTE; Chloronema sp. и Oscillochloris sp.) и Chlorobiota (0,8-3%). Кроме этого, менее 2% ОТЕ в изученных микробиомах составляют представители Armatimonadota, Gemmatimonadota, Verrucomicrobiota и Candidatus Thermi. Полученные нами данные в целом согласуются с результатами световой микроскопии и флуоресцентной in situ визуализации. Наряду с этим, были выделены в лабораторные культуры и описаны представители доминирующих таксонов цианобактерий (Pseudanabaena, Phormidesmis, Leptolyngbya, Microcoleus, Nostoc).

Полученные нами результаты в целом согласуются с ранее опубликованными данными и существенно дополняют имеющиеся сведения о биоразнообразии цианобактерий в антарктических альго-бактериальных сообществах. Кроме этого, нами сформирована первая российская рабочая коллекция культивируемых штаммов антарктических цианобактерий с целью их дальнейшего изучения и получения перспективных биотехнологических продуцентов вторичных метаболитов.

Исследование проведено при финансовой поддержке гранта РНФ №22-24-00590 при поддержке ресурсных центров Научного парка СПбГУ «Развитие молекулярных и клеточных технологий», «Культивирование микроорганизмов», «Биобанк» и «Хромас».

Alekseev, I., Zverev, A., Abakumov, E. (2020). Microbial communities in permafrost soils of Larsemann Hills, Eastern Antarctica: environmental controls and effect of human impact. — *Microorganisms* 8: 1202.

- Amann, R.I., Fuchs, B.M., Behrens, S.F. (2001): The identification of microorganisms by fluorescence *in situ* hybridization. *Current Opinion in Biotechnology* 12: 231–236. Bhakta, S., Rout, T.K., Karmakar, D., Pawar, C., Padhy, P.K. (2022): Trace elements and their potential risk assessment on polar ecosystem of Larsemann Hills, East Antarctica. *Polar Science* 31(6): 100788.
- Bolyen, E., Rideout, J.R., Dillon, M.R. et al. (2019): Reproducible, interactive, scalable, and extensible microbiome data science using QIIME 2.—*Nature Biotechnology* 37: 852–857
- Ellis-Evans, J.C., Laybourn-Parry, J., Bayliss, P.R. Perriss, S.J. (1998): Physical, chemical and microbial community characteristics of lakes of the Larsemann Hills, Continental Antarctica. *Archiv für Hydrobiologie* 141(2): 209–230.
- Gupta, P. (2021): First report of diversity of cyanobacteria of Broknes Peninsula of Larsemann Hills, East Antarctica. *Cryptogamie Algologie* 42(15): 20 (15): 241–251.
- Komarek, J. (2016): A polyphasic approach for the taxonomy of cyanobacteria: principles and applications. *European Journal of Phycology* 51: 346–353.
- Loy, A., Horn, M., Wagner, M. (2003): ProbeBase: an online resource for rRNA-targeted oligonucleotide probes. *Nucleic Acids Research* 31(1): 514–516.
- Sabbe, K. Hodgson, D.A., Verleyen, E., Taton, A., Wilmotte, A., Vanhoutte, K., Vyverman, W. (2004): Salinity, depth and the structure and composition of microbial mats in continental Antarctic lakes.— *Freshwater Biology* 49: 296–319.
- Sinclair, L., Osman, O.A., Bertilsson, S., Eiler, A. (2015): Microbial community composition and diversity via 16S rRNA gene amplicons: evaluating the Illumina Platform. *PLOS ONE* 10(2): e0116955.
- Taton, A., Grubisic, S., Ertz, D. (2006): Polyphasic study of Antarctic cyanobacterial strains. *Journal of Phycology* 42: 1257–1270.
- Taton, A., Hoffmann, L., Wilmotte, A. (2008): Cyanobacteria in microbial mats of Antarctic lakes (East Antarctica) a microscopical approach. *Archiv für Hydrobiologie* 126: 173–208.
- Velichko, N.V., Smirnova, S.V., Averina, S., Pinevich A.V. (2021): A survey of Antarctic microbiota, with the emphasis on diversity, environment adaptations, and ecotypes in cyanobacteria. — *Hydrobiologia*, 848(11): 2627–2652.

### Е.Л. Воденеева, Е.М. Шарагина, П.В. Кулизин

# РАЗВИТИЕ СИНЕЗЕЛЕНЫХ ВОДОРОСЛЕЙ В ЧЕБОКСАРСКОМ ВОДОХРАНИЛИЩЕ В ЗОНЕ ВЛИЯНИЯ НИЖЕГОРОДСКОЙ ГЭС

E.L. Vodeneeva, E.M. Sharagina, P.V. Kulizin

# THE DEVELOPMENT OF BLUE-GREEN ALGAE IN THE CHEBOKSAR RESERVOIR IN THE INFLUENCE ZONE OF THE NIZHNY NOVGORODSKAYA HYDROELECTRIC POWER PLANT

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия, vodeneeva@mail.ru

Проведена оценка состава, степени развития и роли синезеленых водорослей в Чебоксарском водохранилище в зоне влияния Нижегородского гидроузла (Горьковская ГЭС, нижний бьеф), важного инфраструктурного объекта, выполняющего задачи водо — и энергоснабжения, водного и автомобильного транспорта, рекреации (Бурдин, 2011). Исследуемый участок Чебоксарского водохранилища относится к верхнему речному отделу, находится в непосредственной близости от плотины Горьковской ГЭС, характеризуется заметной скоростью течения и сильным перемешиванием водных масс.

Альгологические исследования в нижнем бьефе Нижегородской ГЭС проводили в 2020 и 2022 гг. в сроки основных гидрологических фаз (весна, лето, осень) вегетационного периода. Отбор проб проводили по сетке станций (в 2020 г. — 3 станции, в 2022 г. — 5 станций), расположенных на расстоянии от плотины в 600-700 м. Фитопланктон отбирали интегрально со всей толщи воды через равные интервалы глубин, соединяя равные объемы подпроб в одну, в 2022 году тоже проводился отбор поверхностных проб. Сбор и обработка проб осуществлялась общепринятыми в гидробиологии методами (Кузьмин, 1975). Перечень работ, используемых при идентификации видов фитопланктона и определении функциональных групп, приводился ранее (Воденеева, Кулизин, 2019; Кулизин и др., 2020).

Видовое богатство синезеленых водорослей, обнаруженных в период исследования, было сформировано 36 видовыми таксонами (3-я ранговая позиция общего состава альгофлоры) из 19 родов, среди которых наиболее разнообразно представлен род *Dolichospermum*. Функциональное разнообразие синезеленых водорослей было представлено 7 функциональными

группами фитопланктона — Тс,  $S_1$ , K,  $H_1$ ,  $H_2$ ,  $L_0$ , M, большинство представителей адаптированы к обитанию в малых и средних водоемах с повышенным содержанием органических веществ.

Средневегетационные величины общей биомассы фитопланктона Чебоксарского водохранилища в нижнем бьефе находились в пределах  $1,96-2,48\ r/m^3$  (уровень мезотрофных вод), что соответствует данным многолетних исследований (Охапкин, 1994, Охапкин и др., 2013; Шурганова и др., 2017). В отдельные сезоны 2020 г. средние для створа значения интегральной биомассы изменялись от  $1,66\ до\ 3,90\ r/m^3$ . В 2022 году диапазон варьирования этого показателя оставался схожим, причем значения интегральной и поверхностной биомассы различались слабо  $(1,71-2,41\ r/m^3\ u\ 1,39-2,79\ r/m^3\ соответственно)$ , что может свидетельствовать о равномерном распределении фототрофного планктона в толще воды в результате активного перемешивания вод под влиянием работы гидроузла.

Весной, в период незначительного прогрева воды, роль синезеленых водорослей оказалась незначительной. В это время основу альгоценозов формировали комплексы, представленные центрическими диатомовыми водорослями родов *Aulacoseira, Stephanodiscus, Actinocyclus*. Синезеленые водоросли, как заметные компоненты альгоценозов, отмечались при максимальном прогреве вод, формируя до 90-95% суммарной численности и 19-49% биомассы. Доля этой группы водорослей в биомассе в поверхностных слоях была в 1,2-1,3 раза выше, чем в интегральной. В составе доминирующего комплекса выявлены тривиальные возбудители «цветения» волжских вод — виды рода *Microcystis* (*M. aeruginosa* (Kützing) Kützing, *M. wesenbergii* (Kützing) Kützing,) и *Aphanmizomenon flos-aquae* Ralfs ex Bornet & Flahault).

Работа выполнена в рамках реализации Программы стратегического академического лидерства «Приоритет 2030» ННГУ (№ темы Н-468-99 2021-2023).

- Бурдин Е.А. (2011): Горьковский гидроузел: особенности проектирования (1946–1957 гг.) Вестник Ульяновского государственного технического университета 2 (54): 11–12.
- Воденеева Е.Л., Кулизин П.В. (2019): Водоросли Мордовского заповедника (аннотированный список видов). М. 62 с. [Флора и фауна заповедников. Вып. 134].
- Кузьмин Г.В. (1975): Фитопланктон Методика изучения биоценозов внутренних водоемов. М.: Наука. С. 73–87.
- Кулизин П. В., Воденеева Е. Л., Охапкин А. Г. (2020): Опыт использования функциональной классификации фитопланктона для оценки качества воды некоторых левобережных притоков р. Волги (бассейн Чебоксарского водохранилища). Принципы экологии 2: 48–59.
- Охапкин А.Г. (1994) Фитопланктон Чебоксарского водохранилища. Тольятти. 275 с.
- Охапкин А.Г., Шурганова Г.В., Пухнаревич Д.А., Кудрин И.А., Ильин М.Ю., Бондарев О.О., Воденеева Е.Л. (2016): О современном гидроэкологическом состоянии зоны речной гидравлики Чебоксарского водохранилища. Приволжский научный журнал 1: 104-113.
- Шурганова Г.В., Охапкин А.Г., Гаврилко Д.Е., Воденеева Е.Л., Кудрин И.А., Пухнаревич Д.А., Нижегородцев А.А., Гелашвили Д.Б. (2017): Современное состояние и прогноз изменения сообществ гидробионтов в зоне строительства Нижегородского низконапорного гидроузла. Самарский научный вестник 6 (4 (21)): 103–109.

### Е.Ю. Воякина, Е.Н Чернова

# РАСПРОСТРАНЕНИЕ ЦИАНОБАКТЕРИЙ И ИХ МЕТАБОЛИТОВ В ПРИБРЕЖНОЙ ЗОНЕ ЛАДОЖСКОГО ОЗЕРА В РАЙОНЕ ВАЛААМСКОГО АРХИПЕЛАГА

Санкт-Петербургский Федеральный исследовательский центр Российской академии наук, г. Санкт-Петербург, Россия, katerina.voyakina@gmail.com

Эвтрофирование водоемов, сопровождающееся активной вегетацией одного или нескольких видов водорослей («цветение» водоемов) и выделением в окружающую среду природных токсинов, представляет серьезную угрозу для водных экосистем. Проблема «вредоносного цветения водорослей» давно уже стала актуальной для водоемов Северо-Запада России. Активная вегетация цианобактерий часто сопровождается выделением и накоплением в водной среде биологически активных веществ и токсинов, представляющих опасность для жизни и здоровья человека и животных (Водоросли.., 2006).

В настоящее время «цветут» практически все водоёмы Северо-Запада России, в том числе и Ладожское озеро. До недавнего времени активная вегетация цианобактерий отмечалась в южном районе озера и бухтах. В последнее время это явление постоянно наблюдается и в прибрежной зоне Ладожского озера в районе Валаамского архипелага.

В Ладожском озере было обнаружено более 40 видов цианобактерий, часть из этих видов потенциально токсичны и периодически в летний период формируют «цветение» воды. Обычно активная вегетация наблюдается в южной части Ладожского озеро, особенно в бухте Петрокрепость, Волховская и Свирская губы. Чаще всего преобладали *Aphanizomenon flos-aquae* Ralfs ex Bornet & Flahault, виды рода *Dolichospermum* (Ralfs ex Bornet & Flahault) P. Wacklin, L. Hoffmann & J. Komárek и *Microcystis* Kütz. ex Lemm, *Woronichinia naegeliana* (Unger) Elenkin, *Coelosphaerium kuetzingianum* Nägeli (Сафронова, Волошко, 2018).

Работа проводилась в прибрежной зоне Ладожского озера в районе Валаамского архипелага, расположенного в северо-восточной части Ладожского озера на расстоянии около 40 км от г. Сортавала. Общая площадь архипелага — 36 км². Прибрежная зона Валаамского архипелага отличается разнообразием биотопов и включает в себя открытые участки с большим перепадом глубин, мелководные бухты, глубокие заливы.

В работе использован материал, собранный в июле-августе в 1998-2022 гг. на 11-17 станциях прибрежной зоны Валаамского архипелага. Для отбора и обработки проб фитопланктона использовали общепринятые методы (Руководство.., 1983). Интегральные пробы фитопланктона отбирали батометром через 0,5 – 1,0 м в зависимости от глубины станции, фиксировали раствором Люголя, концентрировали отстойным методом, клетки водорослей и цианобактерий просчитывали в камере Нажотта. Для определения профиля цианобактериальных токсинов и их количественного определения использовался метод высокоэффективной жидкостной хроматографии — масс-спектрометрии высокого разрешения (ВЭЖХ-МС-ВР) (LTQ OrbiTrap («Finnigan»), ESI +). Были определены концентрации внутриклеточных и внеклеточных цианотоксинов (Chernova at al., 2019).

Несмотря на разнообразие альгофлоры прибрежной зоны Валаамского архипелага, в период максимального прогрева воды по показателям обилия на большинстве станций доминировали различные виды цианобактерий, на их долю приходилось более 50 % по численности и биомассе. За период исследования были выявлены как пространственные, так и межгодовые различия в структуре фитопланктона. Прежде всего, эти различия связаны с особенностями температурной стратификации и характеристиками ветрового режима. В годы со штилевыми условиями различия между станциями были наиболее существенны. Показано, что максимальные показатели обилия были в закрытых бухтах южного и восточного участков побережья Валаамского архипелага. Чаще всего в состав видов-доминант входили Aphanizomenon flos-aquae Ralfsex Bornetet Flahaut, Dolichospermum spiroides (Kleb.) Wacklin et al., Limnothrix planctonica (Wolos) Meffert, Planktothrix agardhii (Gom.) Anag. & Kom., Woronichinia compacta (Lemm.) Komárek & Hindák (Воякина, 2009; Воякина, Чернова, 2022).

В периоды отсутствия ветрового перемешивания в бухтах и закрытых участках побережья наблюдалось «цветение» воды и формировались цианобактериальные пятна. За последние три года было проведено подробное исследование таких пятен «цветения» в заливе Крестовый в районе расположения учебно-научной станции «Валаам» РГГМУ. При этом, несмотря на то, что обычно в таких пятнах «цветения» доминировали потенциально токсичные виды цианобактерий, до последнего времени цианотоксины в прибрежной зоне Валаамского архипелага обнаружить не удавалось. Так, например, в 20 августа 2020 г. в пятне «цветения» численность цианобактерий была 255,0 млн. кл/л, биомасса — 14,06 мг/л. Доминировали виды родов Woronichinia и Dolichospermum. При этом токсины в лиофилизированной биомассе обнаружены не были. В 2021 г. пятна «цветения» цианобактерий наблюдались дважды — в начале июля и во второй половине августа. В начале июля в планктоне доминировал только один вид цианобактерий — Dolichospermum sigmoideum. Численность была 145,6 млн. кл/л, биомасса — 9,53 мг/л. В августе показатели обилия были выше (численность — 614,0 млн. кл/л, биомасса — 58,37 мг/л). Доминировали Aphanizomenon flos-aquae и виды рода Dolichospermum. Токсины цианобактерий не наблюдались.

В 2022 г. активная вегетация цианобактерий была отмечена 16 августа (численность 379,2 млн. кл/л, биомасса – 34,16 мг/л). В планктоне доминировали виды *Aphanizomenon flosaquae*, *Dolichospermum spiroides*, *Microcystis aeruginosa*, *Woronichinia compacta*. Концентрация хлорофилла-а была экстремально высокой — 989,1 мкг/л. Максимальное суммарное содержание внутриклеточных токсинов (7,71 мкг/л) было зарегистрировано в пятне «цветения» в конце августа.

Значительно больший вклад вносили деметилированные варианты микроцистинов, составляя 92% от суммарного содержания токсинов. MC-LR был детектировано на уровне (0,18 мкг/л) (Воякина, Чернова, 2022).

Таким образом, впервые получена информация о составе и концентрации внутриклеточных метаболитов цианобактерий в прибрежной зоне Ладожского озера в районе Валаамского архипелага. Сложности в обнаружении цианотоксинов в пятнах «цветения», в первую очередь связаны с погодными условиями: непродолжительностью штиля и ветровым перемешиванием, в результате которого пятна «цветения» быстро разрушались.

- Водоросли, вызывающие «цветение» водоемов Северо Запада России (2006) М: КМК, 367 с.
- Воякина Е.Ю. (2009): Межгодовая динамика структурных показателей фитопланктона различных участков прибрежной зоны Ладожского озера в районе Валаамского архипелага Рыбохозяйственное исследование больших озер Северо-Запада европейской части России. Сб. науч. тр. ФГНУ «ГосНИОРХ» 334: 62—74.
- Воякина Е.Ю., Чернова Е.Н. (2022): Цианобактериальные цветения в Ладожском озере в районе Валаамского архипелага. Актуальные проблемы планктонологии: 42—45.
- Сафронова Т.В., Волошко Л.Н. (2018): Исследование цианобактерий, продуцирующих биологически активные вещества в Ладожском озере – Астраханский вестник экологического образования 6(48): 103-109.
- Руководство по методам гидробиологического анализа поверхностных вод и донных отложений (1983) Л.: Гидрометеоиздат, 239 с.
- Chernova E., Sidelev S., Russkikh Ia., Voyakina E., Zhakovskaya Z. (2019): First observation of microcystin and anatoxin-a-producing cyanobacteria in the easternmost part of the Gulf of Finland (the Baltic Sea) Toxicon 157: 18–24.

### Л.А. Гайсина<sup>1,2</sup>, Е.И. Мальцев<sup>3</sup>

### МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ШТАММА *MICROCOLEUS*, ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ ПОЧВ ЛЕСОСТЕПНОЙ ЗОНЫ БАШКИРИИ (ЮЖНЫЙ УРАЛ)

L.A. Gaysina <sup>1,2</sup>, E.I. Maltsev<sup>3</sup>

# MOLECULAR-GENETIC AND ECOLOGICAL FEATURES OF MICROCOLEUS STRAIN, ISOLATED FROM THE FOREST-STEPPE ZONE SOILS OF BASHKIRIA (SOUTH URALS)

<sup>1</sup>Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы, Уфа, Россия, <sup>2</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии РАН, Большие Вяземы, Россия lira.gaisina@mail.ru

<sup>3</sup>Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия ye.maltsev@gmail.com

Microcoleus vaginatus Gomont является одним из наиболее распространенных видов цианобактерий (Siegesmund et al., 2008; Dvořák et al., 2012; Hašler et al., 2012; Strunecký et al., 2013). Этот таксон считается одним из наиболее важных с точки зрения экологии в микробиологических корочках по всему миру (Johansen, Shubert, 2001). В то же время, устойчивость вида к экстремальным значениям экологических факторов изучена крайне недостаточно. Другой проблемой является то, что точность идентификации Microcoleus vaginatus в аутэкологических исследованиях не всегда подтверждена методами молекулярно-генетического анализа, поэтому мы весьма далеки от реального представления об экологии данного вида.

При изучении биоразнообразия наземных водорослей и цианобактерий лесостепной зоны Башкирии был выделен штамм цианобактерии ЗК *Microcoleus*, сходный по морфологии с *Microcoleus vaginatus*. Целью исследования было определение таксономического положения обнаруженного штамма и определение его устойчивости к высоким и низким температурам, рН, засолению, а также к хлоридам меди, никеля и марганца.

В экспериментах по оценке влияния экологических факторов на морфологию цианобактерии степень воздействия фактора определяли по изменению длины, ширины трихомов и их биологического объема, окраске, состоянию протопласта и подвижности трихомов. Молекулярногенетический анализ по маркерам 16S pPHK и 16-23S ITS проводили с использованием ранее описанных методик (Strunecký et al., 2013).

Установлено, что последовательность гена 16S pPHK штамма 3K Microcoleus была идентичной последовательностям штаммов Microcoleus vaginatus K1\_08 (номер доступа в NCBI KC633990) и Microcoleus vaginatus SL7A (номер доступа в NCBI JQ712623). Штамм K1\_08 выделен из почвы с плато Ладакх на севере Индии (Strunecký et al., 2013), а штамм SL7A — из почвы на территории чешского муниципалитета Зволе (Dvořák et al., 2012).

Эксперименты по оценке влияния на штамм 3K *Microcoleus* экологических факторов показали, что цианобактерия сохраняла свои морфологические признаки при нагревании до  $48^{\circ}$  С, воздействие pH от 4 до 11, концентрации хлорида натрия до 0.35 моль/л, карбоната натрия до 0.005 моль/л, хлорида меди до  $1 \times 10^{-3}$  моль/л, хлорида никеля до  $1 \times 10^{-4}$ , хлорида меди до  $1 \times 10^{-2}$  моль/л. Замораживание не оказывало существенного воздействия на 3K *Microcoleus*, после воздействия отрицательных температур цианобактерия восстанавливала морфологический статус. Обнаружено, что под влиянием различных экологических факторов размерные признаки и биологический объем трихомов изменялись незначительно. В то же время, состояние протопласта и подвижность нитей отражали степень негативного воздействия и позволяли оценивать жизнеспособность цианобактерии.

Полученные исследования показали относительно высокую устойчивость штамма 3К *Microcoleus* к экстремальным значениям экологических факторов. Вероятно, резистентность представителей рода *Microcoleus* к неблагоприятным условиям окружающей среды объясняет их широкое географическое распространение в разнообразных экосистемах по всему миру.

Исследования были выполнены при поддержке средств государственного задания Минпросвещения РФ в рамках темы BWUZ-2023-0006.

- Siegesmund, M.A., Johansen, J.R., Karsten, U. & Friedl, T. (2008): *Coleofasciculus* gen. nov. (Cyanobacteria): morphological and molecular criteria for revision of the genus *Microcoleus* Gomont. *Journal of Phycologyl* (44): 1572—1585.
- Dvořák, P., Hašler, P. & Poulíčková. A. (2012): Phylogeography of the *Microcoleus vaginatus* (Cyanobacteria) from Three Continents A Spatial and Temporal Characterization. *PLoS ONE*. 2012 7(6): e40153. doi:10.1371/journal.pone.0040153
- Hašler, P., Dvořák, P., Johansen, J.R., Kitner, M., Ondřej, V. & Poulíčková, A. (2012): Morphological and molecular study of epipelic filamentous genera *Phormidium*, *Microcoleus* and *Geitlerinema* (Oscillatoriales, Cyanophyta/Cyanobacteria). Fottea, Olomouc 12 (2): 341—356.
- Strunecký, O., Komárek, J., Johansen, J., Lukešová, A. & Elster, J. (2013): Molecular and morphological criteria for revision of the genus *Microcoleus* (Oscillatoriales, Cyanobacteria). Journal of Phycology 49: 1167—1180.
- Johansen, J.R. & Shubert, L.E. (2001): Algae in soil. —Nova Hedwigia. Beiheft 123: 297—306.

Л.А. Гайсина<sup>1,2</sup>, А.И. Фазлутдинова<sup>1</sup>, Л.М. Сафиуллина<sup>1</sup>, Г.Ф. Хасанова<sup>1</sup>, А.И. Гизатуллина<sup>1</sup>, Е.Р. Резванова<sup>1</sup>, Н.В. Суханова<sup>1</sup>

#### ИЗУЧЕНИЕ ЦИАНОБАКТЕРИАЛЬНО-ВОДОРОСЛЕВЫХ ФЛОР ЮЖНО-УРАЛЬСКОГО РЕГИОНА

L.A. Gaysina <sup>1,2</sup> A.I. Fazlutdinova<sup>1</sup>, L.M. Safiullina<sup>1</sup>, G.F. Khasanova<sup>1</sup>, A.I. Gizatullina<sup>1</sup>, E.R. Rezvanova<sup>1</sup>, N.V. Sukhanova<sup>1</sup>

#### STUDY OF CYANOBACTERIAL-ALGAL FLORA OF THE SOUTH URAL REGION

<sup>1</sup>Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы, Уфа, Россия, lira.gaisina@mail.ru <sup>2</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии РАН, Большие Вяземы, Россия

Исследование биоразнообразия наземных цианобактерий и водорослей является актуальной задачей современной микробиологии и альгологии. Особый интерес представляет изучение территорий с уникальным географическим положением, к которым относится и Южно-Уральский регион (ЮУР).

Материалом для работы послужило изучение 312 проб почвы, микробиотических корочек, соскобов со скал, коры деревьев, отобранных согласно классическим почвенно-альгологическим методам (Голлербах, Штина, 1969) в бореально-лесной, широколиственной, лесостепной и степной зонах Башкирии, а также в Брединском районе Челябинской области. Для выделения альгологически чистых культур использовали метод разбавления с модификациями (Гайсина и др., 2008). Штаммы выращивали на питательной среде Болда (Bischoff, Bold, 1963) с утроенным

содержанием азота и на среде Бристоль (Сиренко и др., 1975). Определение видов проводили с использованием микроскопа Axio Imager A2 с реализацией ДИК контраста с камерой Axio Cam MRC при увеличении ×1000 с использованием масляной иммерсии. Для идентификации ряда таксонов использовали методы молекулярно-генетического анализа. Диатомовые водоросли изучали в живом состоянии и на слайдах, изготовленных путем кипячения проб почвы в азотной кислоте с последующим ополаскиванием и высушиванием. Определение видов проводилось с использованием традиционных таксономических сводок и монографий. Для уточнения названия водорослей использовали базу данных AlgaeBase (Guiry, Guiry, 2023). При определении закономерностей наземных цианобактериально-водорослевых флор использовали элементы синтаксономического анализа в соответствии с подходом Браун-Бланке (Миркин, Наумова, 1998).

В результате проведения исследований обнаружено, что число видов водорослей и циано-бактерий возрастало от бореально-лесной к лесостепной зонам и затем уменьшалось к степной зоне. В то же время число видов в пробах от бореально-лесной зоны к степной уменьшалось. Вероятно, это явление связано с уменьшением влажности местообитаний.

Обнаружено, что ряд таксонов встречался во всех исследованных зонах ЮУР, т.е. являлись сквозными видами. К ним относились представители нитчатых цианобактерий Leptolyngbya voronichiniana, L. foveolarum, Microcoleus vaginatus, Phormidium breve, зеленые водоросли Pleurastrum sarcinoideum, Bracteacoccus minor, Coelastrella rubescens, стрептофитовая водоросль Klebsormidium flaccidum, диатомовая водоросль Hantzschia amphioxys. Следует отметить, что во всех зонах ЮУР достаточно часто встречались представители родов Chlamydomonas и Chlorococcum, однако из-за сложности их определения по морфологическим признакам они в основном идентифицировались до рода.

Установленное нами широкое распространение Microcoleus vaginatus, Leptolyngbya foveolarum, Phormidium breve, Bracteacoccus glacialis, Hantzschia amphioxys соответствует результатам предыдущих исследований цианобактериально-водорослевых флор как ЮУР (Кузяхметов, 2006), так и других регионов России (Алексахина, Штина, 1984) и территорий зарубежных государств (Костіков и др., 2001). В то же время, практически повсеместная представленность видов Pleurastrum sarcinoideum, Leptolyngbya voronichiniana, Coelastrella rubescens была впервые отмечена для ЮУР. В этом регионе впервые было изучено распространение вида Hantzschia abundans, выделенного из вида H. amphioxys на основании морфологических что цианобактерии cf. Trichormus variabilis Обнаружено, и *Cylindrospermum* michailovskoense являются диагностическими (характерными) видами для лесной и лесостепной зоны ЮУР. К дифференцирующим видам бореально-лесной зоны ЮУР были отнесены Nostoc cf. punctiforme, Luticola mutica, Vischeria magna. Эти таксоны также относятся к космополитам, которые, однако, предпочитают влажные местообитания. В зоне широколиственных лесов было установлено широкое распространение цианобактерии cf. Trichocoleus hospitus, который был впервые обнаружен не только на территории ЮУР, но и России в целом. Другие виды этой зоны были отнесены к редким. В основном это были представители родов Chlorococcum и Tetracystis, часто встречающиеся в лесных экосистемах (Костіков и др., 2001). К дифференцирующим видам зоны широколиственных лесов и зоны лесостепи относились Chlorosarcinopsis gelatinosa, Dictyococcus varians и Valeriella cf. minor, которые достаточно распространены в наземных экосистемах (Костіков и др., 2001). Цианобактериально-водорослевые флоры лесостепной зоны ЮУР характеризовались распространением видов, характерных для лесных экосистем, например, представители родов Chlorella u Lobochlamys.

Таким образом, в ходе проведенных исследований было установлено влияние зональности на экологические особенности наземных цианобактериально-водорослевых флор Южно-Уральского региона. Несмотря на то, что ряд таксонов встречался на всей территории региона, в каждой зоне были обнаружены дифференцирующие виды, характеризующие экологические особенности конкретных местообитаний.

Исследования были выполнены при поддержке средств государственного задания Минпросвещения РФ в рамках темы BWUZ-2023-0006.

Алексахина Т.И, Штина Э.А. (1984): Почвенные водоросли лесных биогеоценозов.— М.: Наука.— С. 127.

- Гайсина Л.А., Фазлутдинова А.И., Кабиров Р.Р. (2008): Современные методы выделения и культивирования водорослей: учебное пособие. Уфа: Изд-во БГПУ. 152 с.
- Голлербах М.М., Штина Э.А. (1969): Почвенные водоросли. Л.: Наука. 228 с.
- Костіков І.Ю., Романенко П.О., Демченко Е.М., Дарієнко Т.М., Михайлюк Т.І., Рибчинский О.В., Солоненко А.М. (2001): Водорості грунтів України (історія та методи досліджения, система, конспект флори). Київ: Фітосоціоцентр. 300 с.
- Кузяхметов Г.Г. (2006): Водоросли зональных почв степи и лесостепи: монография / Под. ред. Б.М. Миркина. Уфа: РИО БашГУ. 286 с.
- Миркин Б.М., Наумова Л.Г. (1998): Наука о растительности (история и современное состояние основных концепций). Уфа: Гилем. 413 с.
- Сиренко Л.А., Сакевич А.И., Осипов Л.Ф. и др. (1975): Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике. Киев: Наук. думка. 247 с.
- Bischoff, H.W. & Bold, H.C. (1963): Phycological studies. IV. Some soil algae from Enchanted Rock and related algal species. University of Texas Publications 6318, Austin. 95 pp.
- Guiry, M.D. & Guiry, G.M. (2023): AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. https://www.algaebase.org; searched on 13 May 2023

О.А. Горелова, О.В. Карпова, О.И. Баулина, Л.Р. Семенова, И.О. Селях, А.Е. Соловченко, Е.С. Лобакова

# АНОМАЛИИ ФОРМИРОВАНИЯ ГЕТЕРОЦИСТ *NOSTOC* SP. РСС 7120 ПРИ РАЗЛИЧНОЙ ДОСТУПНОСТИ НЕОРГАНИЧЕСКОГО ФОСФОРА

O.A. Gorelova, O.V. Karpova, O.I. Baulina, L.R. Semenova, I.O. Selyakh, A.E. Solovchenko, E.S. Lobakova

# ABNORMAL HETEROCYST FORMATION IN *NOSTOC* SP. PCC 7120 UNDER VARIABLE AVAILABILITY OF INORGANIC PHOSPHATE

ФГБОУВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова», Москва, РФ, ogo439@mail.ru

Известно, что для синтеза и активности нитрогеназы, ключевого фермента фиксации молекулярного азота (N), и функционально сопряженных с ней белков, как правило, необходимы микроаэробные условия. В аэробной среде обитания нитчатых цианобактерий требуемые условия возникают в гетероцистах (ГЦ) за счет синтеза непроницаемой для кислорода оболочки в сочетании с метаболической модификацией (рост оксидазной активности и ингибирование фотосистемы II). Формирование, распределение в трихоме и функционирование ГЦ зависят от обмена между клетками трихома регуляторами, сигнальными молекулами и метаболитами. Обмен обеспечен непрерывным периплазматическим пространством трихома, транспортерами в цитоплазматической мембране и септальными межклеточными соединениями.

Цель работы — изучение ультраструктуры ГЦ и экспрессии генов, вовлеченных в синтез их оболочки, и нитрогеназы при различной доступности неорганического фосфата ( $P_i$ ).

Исследовали нитчатую цианобактерию *Nostoc* sp. PCC 7120, выращенную на минеральной среде BG-11 $_{\scriptscriptstyle 0}$  (без N) и модифицированной среде BG-11 $_{\scriptscriptstyle L}$  (без N и P). Основные методы: электронная микроскопия ультратонких срезов клеток и оценка уровня экспрессии генов, вовлеченных в дифференцировку ГЦ методом qRT-PCR.

При истощении доступного  $P_i$  в популяции сокращалось количество  $\Gamma$ Ц типичной структуры, выявлялись  $\Gamma$ Ц с аномальной оболочкой (с фрагментированным внутренним и разреженным внешним полисахаридными слоями, без гликолипидного слоя,) или с полным ее отсутствием. В пептидогликановом ( $\Pi$ г) слое клеточной стенки  $\Gamma$ Ц возникали пустоты. Обнаружены также диплетные  $\Gamma$ Ц и парные  $\Gamma$ Ц в одной оболочке со всеми сохранными слоями клеточной стенки и оболочки. После внесения  $P_i$  в среду культивирования такие аномальные  $\Gamma$ Ц сохранялись не менее 2-х недель. Более того, появлялись триплеты  $\Gamma$ Ц и диплеты  $\Gamma$ Ц из пар в одной оболочке. При культивировании в  $\Gamma$ 0 на продольных ультратонких срезах регулярно выявлялись септальные соединения (до 10 наносом). Отсутствие  $\Gamma$ 1 вызвало нарушения дивисом, септальный  $\Gamma$ 1 расслаивался, септальные соединения обнаруживались редко и были атипичны.

Экспрессию генов, вовлеченных в реализацию наблюдаемых фенотипических явлений на стадиях истощения резервов фосфора в клетке и после восполнения  $P_i$  в среде рассчитывали относительно уровня экспрессии, зарегистрированного в клетках экспоненциально растущей

культуры, не испытывающей дефицита фосфора. Показано, что через 2 дня инкубации на среде без  $P_i$  происходило ингибирование экспрессии (до 50%) группы генов, участвующих в формировании гликолипидного слоя (hglB, C, D) и полисахаридных слоев (hepA, B) оболочки  $\Gamma$ Ц. При истощении культуры до остановки роста ингибирование экспрессии перечисленных генов достигает 70-85%. Остаточная экспрессия гена бета-субъединицы динитрогеназы (nifK) составляла 5%.

Выявленные нами ультраструктурные аномалии служат индикаторами нарушений каскада дифференцировки ГЦ на стадиях прогетероцист и зрелых ГЦ, что подтверждено результатами анализа экспрессии генов-маркеров этих стадий.

### **К.К.** Горин<sup>1,2</sup>

# НОВЫЕ НАХОДКИ ЦИАНОПРОКАРИОТ ДЛЯ РОССИЙСКОЙ АКВАТОРИИ ФИНСКОГО ЗАЛИВА БАЛТИЙСКОГО МОРЯ

K.K. Gorin<sup>1,2</sup>

# NEW RECORDS OF CYANOPROKARYOTA FOR THE RUSSIAN AQUATORY OF THE GULF OF FINLAND OF THE BALTIC SEA

<sup>1</sup>Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена, Санкт-Петербург, Россия, gorinbio@gmail.com

<sup>2</sup>Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия, gorinbio@gmail.com

Число известных для Балтийского моря цианопрокариот в настоящий момент составляет около 350 видов, из них 221 вид (больше 50%) отмечен в российских водах Финского залива. Несмотря на это, настоящая акватория остаётся перспективной для выявления новых видов цианопрокариот, в виду неодинаковой степени изученности планктона и бентоса; попадания, как пресноводных, так и морских видов в условия нестабильной солёности залива; влияния судоходства на привнесение новых элементов флоры за счёт балластных вод.

Материалом для настоящей работы послужили пробы цианопрокариот, отбиравшиеся в различных районах Финского залива в вегетационные периоды 2012 – 2022 гг. Виды идентифицировали по морфологическим признакам с помощью определителей J. Komárek, K. Anagnostidis (Komárek, Anagnostidis, 1997, 2005) и J. Komárek (Komárek, 2015).

Вероятно, из-за слабой изученности флоры бентосных Cyanoprokaryota новыми видами для российских вод Финского залива стали распространённые по всей Балтике эпилитные, солоноватоводные виды из порядка Nostocales – *Rivularia nitida* C. Agardh ex Born. et Flah. и *Calothrix contarenii* Born. et Flah. (Pankow, 1971; Plinski, Komárek, 2007.) Оба вида массово развивались на булыжниках, глыбах и скалах в прибрежьях Берёзовых островов, однако первый зарегистрирован также в Копорской губе, а второй имел более широкое распространение и встречался в прибрежьях Выборгского залива и острова Гогланд.

Новыми для флоры акватории залива стал достаточно распространённый в Европейской части России пресноводно-солоноватоводный планктонный вид *Gloeotrichia echinulata* P. G. Richt. обнаруженный в тростниковых зарослях архипелага Берёзовые острова, а также пресноводный вид *Hydrococcus rivularis* Kütz. произраставший в том же районе и на юге Невской губы.

Вид *Merismopedia affixa* P. G. Richt., ранее отмеченный в Балтике, только в Гданьском заливе, выявлен среди песчаных рыхлых грунтов прибрежий Берёзовых островов и Лужской губы.

- Komárek J. & Anagnostidis K. (1998): Cyanoprokaryota. 1. Teil. Part: Chroococcales Berlin: Spektrum. 548 pp.
- Komárek J. & Anagnostidis K. (2005): Cyanoprokaryota. 2. Teil. Part: Oscillatoriales Berlin: Spektrum. 759 pp.
- Komárek J. (2013): Cyanoprokaryota. 3. Teil. 3rd part: Heterocytous genera. Berlin: Springer Spektrum. 1133 pp.
- Pankow H. (1971): Algenflora der Ostsee I. Benthos (Blau-, Grün, Braun und Rotalgen). Jena: Stuttgart: 419 pp.
- Plinski M. & Komárek J. (2007): Sinice Cyanobakterie (Cyanoprokaryota). Gdańsk: Wydawnictwo Uniwersytetu Gdańskievo: 172 pp.

О.А. Дмитриева<sup>1,2</sup>, А.С. Семенова<sup>1,3</sup>, Е.Ю. Казакова<sup>1</sup>

# СТРУКТУРА И ДИНАМИКА ПЛАНКТОННЫХ СООБЩЕСТВ В ПРИБРЕЖНОЙ ЗОНЕ КУРШСКОГО ЗАЛИВА БАЛТИЙСКОГО МОРЯ В 2017–2021 ГГ. В ПЕРИОД ЦИАНОБАКТЕРИАЛЬНЫХ «ЦВЕТЕНИЙ» ВОДЫ

O.A. Dmitrieva<sup>1,2</sup>, A.S. Semenova<sup>1,3</sup>, E.Y. Kazakova<sup>1</sup>

# STRUCTURE AND DYNAMICS OF PLANKTON COMMUNITIES IN THE COASTAL ZONE OF THE CURONIAN LAGOON OF THE BALTIC SEA IN 2017–2021 IN THE PERIOD OF CYANOBACTERIAL "BLOOM" OF WATER

<sup>1</sup>Атлантический филиал ФГБНУ «ВНИРО», г. Калининград, a.s.semenowa@mail.ru <sup>2</sup>Институт Океанологии им П.П. Ширшова РАН, Москва, phytob@yandex.ru <sup>3</sup>Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, пос. Борок, Некоузский р-н, Ярославская обл.

Различные по своей интенсивности цианобактериальные «цветения» воды ежегодно регистрируют в летний период в Куршском заливе Балтийского моря. В заливе микроцистин-продуцирующими таксонами с установленной токсикогенностью являются представители рода *Microcystis* и *Planktothrix agardhii* (Belykh et al., 2013; Sidelev et al., 2020; Overlingė et al., 2021). В период цианобактериальных цветений воды в зоопланктоне может существенно увеличиваться доля мертвых особей, которую можно использовать как индикатор воздействия цианобактериальных цветений (Semenova, 2011; Семенова, 2013; Tang et al., 2014). Влияние токсинов цианобактерий исследуют, применяя также методы биотестирования (Pesnya et al., 2022).

Несмотря на изученность планктонных сообществ Куршского залива, сравнение сообществ планктона в прибрежной зоне (в зарослях макрофитной растительности и свободной от макрофитов акватории), а также биотестирование вод Куршского залива ранее не проводились. Целью работы было описание структуры и динамики планктонных сообществ Куршского залива и оценка влияния цианобактериальных «цветений» на состояние зоопланктона в прибрежной и открытой частях залива.

Изучение фитопланктона и зоопланктона проводили в 2017–2021 гг. в российской части Куршского залива на двух станциях в районе научно-экспериментальной базы АтлантНИРО (далее НЭБ) и на шести станциях в открытой части Куршского залива. Пробы планктона в прибрежной зоне отбирали ежемесячно (с января по декабрь) на двух стандартных станциях. Станция НЭБ-1 расположена в более глубоководной части водоема (глубина 3 м) на удалении 500 м от берега за поясом макрофитов. Станция НЭБ-2 – в прибрежной мелководной литоральной зоне (глубина 0.5 м), окруженной поясом макрофитов. Пробы планктона собирали и обрабатывали по стандартной методике (Методика изучения, 1978). После отбора проб зоопланктона их прижизненно окрашивали 7.5% раствором анилинового голубого красителя с целью установления доли мертвых особей (Seepersad, Crippen, 1978). Биотестирование вод исследуемых акваторий проводили на тест-организмах *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg, 1901 и *Daphnia magna* Straus, 1820. На обоих видах проводили как острые, так и хронические эксперименты согласно аттестованным методикам определения токсичности воды ФР.1.39.2007.03221, ФР.1.39.2011.09714, ФР.1.39.2007.03222 и ФР.1.39.2015.19999.

Сезонная динамика фитопланктона прибрежной зоны Куршского залива характеризовалась преобладанием диатомовых водорослей в весенние месяцы и выраженным летним максимумом с доминированием главным образом цианобактерий и диатомей. В среднем за исследуемый период суммарная биомасса фитопланктона, биомасса цианобактерий и численность клеток потенциальнотоксичных таксонов цианобактерий была выше во все сезоны на более глубоководной станции НЭБ-1, по сравнению с мелководной станцией НЭБ-2. В октябре и ноябре 2018 г., в период нагонных ветров в зарослях макрофитов скапливались большие биомассы цианобактерий, за счет чего происходило значительное увеличение количественных характеристик фитопланктона. В результате локального потепления климата и избеганием планктонными организмами летних «цветений» воды, пик численности зоопланктона сместился на апрель, пик биомассы – на июнь.

В 2017 г. в прибрежной зоне залива концентрация микроцистинов составляла 5–10 мкг/л в прибрежной защищенной макрофитами литорали и 11.3–13.5 мкг/л в прибрежной зоне вне

пояса макрофитоной растительности (Герб и др., 2018; Sidelev et al., 2020). Летом 2018 г. выявлено присутствие микроцистинов в воде прибрежной части Куршского залива, но, по сравнению с предыдущими годами, в меньших количествах и с меньшей частотой. В течение летнего периода микроцистины обнаружены четырежды в концентрации 5 мкг/л в начале июня и 1 мкг/л – в июлеавгусте (Герб и др., 2019). Минимальная степень воздействия на зоопланктон была отмечена в 2020 г., когда численности потенциально-токсичных таксонов и биомасса Microcystis, были минимальны. В этот период было зафиксировано лишь хроническое токсическое воздействие на тест-объекты, заключающееся в стимулировании их репродуктивных показателей, которые связаны с повышенной продуктивностью воды Куршского залива или токсического воздействия не было отмечено. Максимальная степень воздействия цианобактериальных «цветений» и выделяющихся в этот период метаболитов (микроцистинов) на организмы зоопланктона была отмечена в летне-осенний период 2017-2018 гг. В этот период существенно возрастала доля мертвых особей в зоопланктоне и наблюдалось острое токсическое воздействие на тестобъекты. В это время были отмечены наибольшие численности клеток потенциально-токсичных цианобактерий, превышающие норматив ВОЗ в июле-сентябре в 3-11 раз на НЭБ-1 и 1-6 раз на НЭБ-2, регистрировались наибольшая биомасса видов рода Microcystis и высокое содержание токсинов в воде залива.

- Герб М.А., Ланге Е.К., Ежова Е.Е., и др. (2018): Характеристика состояния биоты литоральной зоны Куршского залива в национальном парке «Куршская коса» в 2017 г. Проблемы изучения и охраны природного и культурного наследия национального парка «Куршская коса»: сб. науч. ст. / сост. И.П. Жуковская. Калининград: Изд–во БФУ им. И. Канта 14:. 72–98.
- Герб М.А., Ежова Е.Е., Ланге Е.К. и др. (2019): Характеристика состояния биоты литоральной зоны Куршского залива на территории национального парка «Куршская коса» в 2018 г. Проблемы изучения и охраны природного и культурного наследия национального парка «Куршская коса»: сб. науч. ст. / сост. И.П. Жуковская. Калининград: Изд-во БФУ им. И. Канта 15: 82–108.
- Семенова А.С. (2011): Доля мертвых особей в зоопланктоне Куршского залива Балтийского моря. *Биология внутренних вод* 3: 35-44.
- Семенова А.С. (2013): Изменение показателей смертности зоопланктона Куршского залива в условиях аномально жаркого лета 2010 г. *Вода: химия и экология* 12 (65): 50–57.
- Методика изучения биогеоценозов внутренних водоемов. (1975). М.: Наука. 240 с.
- Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости цериодафний. (2007): Федеральный реестр (ФР). ФР 1.39.2007.03221. Акварос. Москва. Россия. 56 с.
- Belykh O.I., Dmitrieva O.A., Gladkikh A.S., Sorokovikova E.G. (2013): Identification of toxigenic Cyanobacteria of the Genus *Microcystis* in the Curonian Lagoon (Baltic Sea). *Oceanology* 53 (1): 71–79.
- Overlingė D. Toruńska-Sitarz, A., Katarzyte M., et al., (2021): Characterization and diversity of microcystins produced by cyanobacteria from the Curonian Lagoon (SE Baltic Sea). *Toxins* 13 (12). 838 p.
- Pesnya, D.S., Kurbatova, S.A., Sharov, A.N., et al., (2022): Genotoxicity of Natural Water during the Mass Development of Cyanobacteria Evaluated by the Allium Test Method: A Model Experiment with Microcosms. *Toxins* 14(5): 359 p.
- Sidelev S., Zubishina A., Chernova E. (2020): Distribution of microcystin-producing genes in *Microcystis* colonies from some Russian freshwaters: Is there any correlation with morphospecies and colony size? *Toxicon* 184: 136–142.
- Seepersad B., Crippen R.W. (1978): Use of aniline blue for distinguishing between live and dead freshwater zooplankton—*J. Fish. Res. Board Canada* 35 (10): 1363–1366.
- Tang K.W., Gladyshev M.I., Dubovskaya O.P., et al., (2014): Zooplankton carcasses and non-predatory mortality in freshwater and inland sea environments *J. Plankton Res* 36(3): 597–612.

### Т.В. Еремкина, Д.Е. Корбут

### ЦИАНОБАКТЕРИАЛЬНЫЕ «ЦВЕТЕНИЯ» В ВОДОЕМАХ СРЕДНЕГО И ЮЖНОГО УРАЛА

T.V. Eremkina, D.E. Korbut

#### CYANOBACTERIAL «BLOOMS» IN THE WATER BODIES OF THE MIDDLE AND SOUTHERN URAL

Уральский филиал ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии»,

Екатеринбург, Россия, tver60@mail.ru

Массовое развитие цианобактерий в водоемах Среднего и Южного Урала отмечается, начиная с 1910 г. (Справочник .., 1936). Еще в первой половине XX в. цветение озер и прудов *Gloeotrichia echinulata* P.G. Richter 1894, *Aphanizomenon flos-aquae* Ralfs ex Bornet et Flahault 1888, *Microcystis* 

aeruginosa (Kützing) Kützing 1846, *Dolichospermum flos-aquae* ([Lyngbye] Brébisson ex Bornet et Flahault) Wacklin, Hoffmann et Komárek 2009 было обычным явлением.

Развитие промышленности, сельского хозяйства и, как следствие, антропогенизация водосборов привели к повышению скорости эвтрофирования водоемов, что увеличивает продолжительность и усиливает интенсивность процессов цветения (Снитько, 2009; Еремкина, 2010; Еремкина, Ярушина, 2010). Происходит смена видов, формирующих доминирующий комплекс (Еремкина, 2014), увеличилось видовое разнообразие цианобактерий, вызывающих цветение. В настоящей работе обобщены данные, полученные при мониторинговых исследованиях модельных рыбохозяйственных водоемов Челябинской и Свердловской области в 2015-2021 гг.: Аргазинском и Белоярском водохранилищах, озерах Б. Ирдяги, Иртяш, Сунгуль, Курлады, Шайтанское, Янычково, р. Тавда.

В Аргазинском водохранилище развитие цианобактерий находилось в стадии начального или слабого цветения (Оксиюк, Стольберг, 1986) и вызывалось в конце июля Limnothrix planctonica (Wołoszynska) Meffert 1988 (0,38 г/м³) и Oscillatoria tenuis C.Agardh ex Gomont 1892 (1,04 г/м³), в первой декаде августа — D. flos-aquae (0,11 г/м³) и Dolichospermum lemmermannii (Richter in Lemmermann) Wacklin, Hoffmann et Komárek 2009 (0,14 г/м³), в конце августа — M. aeruginosa (1,09 г/м³).

Белоярском водохранилище цветение цианобактерий фиксируется с мая по октябрь от начального до гиперцветения. Развитие A. flos-aquae наблюдается в мае (до 1,07 г/ $м^3$ ), затем в июле –начале августа (от 0,57 до 24,61 г/ $м^3$ ). В течение вегетационного сезона в водоеме развиваются: с третьей декады июня по сентябрь в M. aeruginosa  $(0,14-23,36\ \Gamma/M^3)$ , в конце июля— начале августа—*Microcystis wesenbergii* (Komarek) Komarek in Kondrateva 1968 (1,12 — 82,14 г/м³), Microcystis flos-aquae (Wittrock) Kirchner 1898  $(1,17-75,36 \text{ г/м}^3)$ . В отдельные годы наблюдалось умеренное цветение *Microcystis* ichthyoblabe Kützing 1843 (до 9,65 г/м³) и сильное—Microcystis viridis (A.Braun) Lemmermann 1903 (до 32,56 г/м³). Начиная с 2018 г., после вселения в водоем *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771), интенсивность цианобактериальных цветений резко снизилась. Так, в третьей декаде июля 2021 г. в составе фитопланктона присутствовал только *M. aeruginosa*, достигая биомассы 0,14 г/м<sup>3</sup>, а в 2022 г. цианобактерии отмечены в фитопланктоне единично, обычные для этого периода виды, вызывающие «цветение» воды в предыдущие годы, не наблюдались.

В высокоминерализованном эвтрофном оз. Б. Ирдяги массовое развитие цианобактерий наблюдается, как правило, со второй декады июля по август. От слабого до умеренного цветения развиваются: M.  $aeruginosa~(1,85-10,05~r/m^3)$ , Aphanocapsa~grevillei~(Berkeley) Rabenhorst 1865  $(1,12-5,74~r/m^3)$ , M.  $wesenbergii~(3,08-7,87~r/m^3)$ . Для M. flos-aquae~xapaktepha~cлабая степень цветения— от 1,72 до  $2,15~r/m^3$ . Сильное цветение наблюдалось для Microcystis~pulverea~(Wood) Forti emend. Elenkin 1938 (до  $19,27~r/m^3$ ) в 2015~r., G.  $echinulata~(до <math>11,65~r/m^3$ ) в 2016~r. и D. lemmermannii~(до  $42,25~r/m^3$ ) в 2019~r. Для солоноватого, типичного карасевого оз. Курлады характерно сильное цветение в июле A. flos- $aquae~(до <math>12,68~r/m^3$ ), очень сильное (гиперцветение)—  $Woronichinia~compacta~(Lemmermann)~Komarek~et~Hindak~1988~(до <math>60,29~r/m^3$ ), M.  $aeruginosa~(до <math>45,64~r/m^3$ ), M. flos- $aquae~(до <math>91,85~r/m^3$ ).

Для бессточного среднеминерализованного эвтрофного оз. Шайтанское (Изиметова, 2019) характерно слабое, лишь иногда умеренное «цветение» в июле-августе Planktolyngbya contorta (Lemmermann) Anagnostidis et Komarek 1988 (до 4,55 г/м³), M. pulverea (до 2,70 г/м³), Leptolyngbya tenuis (Gomont) Anagnostidis & Komárek 1988 (до 3,87 г/м³), Leptolyngbya foveolara (Gomont) Anagnostidis & Komárek 1988 (до 1,24 г/м³), M. aeruginosa (1,16-9,31 г/м³), M. wesenbergii (2,41 — 3,60 г/м³), M. flos-aquae (до 1,18 г/м³), A. grevillei (1,63-2,03 г/м³), Aphanizomenon gracile Lemmermann 1907 (до 4,96 г/м³), Woronichinia naegeliana (Unger) Elenkin 1933 (до 5,18 г/м³). В конце сентября 2021 г. после продолжительного, жаркого и маловодного лета в водоеме наблюдалось сильное цветение L. planctonica (до 13,09 г/м³) и Cuspidothrix issatschenkoi (Usachev) Р.Rajaniemi, Кота́гек, R.Willame, P. Hrouzek, K.Kastovská, L.Hoffmann & K.Sivonen 2005 (до 12,70 г/м³). В среднеминерализованном оз. Янычково с начала июля до конца сентября от слабого до умеренного цветения развиваются Cuspidothrix ussaczevii (Proshkina-Lavrenko) Р. Rajaniem, J. Komárek, R. Willame, P. Hrouzek, K. Kastovská, L. Hoffmann & K. Sivonen 2005

(до 5,13 г/м³), *A. flos-aquae* (2,46 — 5,31 г/м³). Сильное цветение наблюдалось для *L. foveolara* (до 35,73 г/м³) в 2016 г., *M. aeruginosa* (до 33,69 г/м³) и *L. planctonica* (до 11,90 г/м³)—в 2021 г., *M. wesenbergii* (до 21,72 г/м³) — в 2018 г.

В плотвично-окуневых оз. Иртяш и Сунгуль, расположенных в пределах одной Каслинско-Кыштымской озерной зоны, до степени слабого цветения развивается *A. flos-aquae*  $(1,03-2,10 \text{ г/m}^3)$ , от слабого до сильного—*D. flos-aquae*  $(1,16-11, 19 \text{ г/m}^3)$ . В оз. Сунгуль периодически наблюдается сильное цветение *M. aeruginosa* (до 32,73 г/м³) и *M. flos-aquae* (до 22,91 г/м³), умеренное — *M. ichthyoblabe* (до 5,27 г/м³).

В среднем течении р. Тавда цианобактерии развиваются, как правило, слабо. За весь период исследований лишь в первой декаде августа 2016 г. отмечено сильное цветение *Anabaena spiroides* f. woronichiniana Elenkin 1938 ( $35,73 \, \Gamma/M^3$ ).

Полученные результаты свидетельствуют о широком распространении процессов «цветения» в водных объектах Среднего и Южного Урала, что требует организации специального изучения этих процессов с целью регулирования и снижения развития.

- Еремкина Т. В. (2010): Структура и функционирование фитопланктона озер северной части Увильдинской зоны (Челябинская область) в условиях антропогенного эвтрофирования.—Автореф. дисс. на соиск. уч. ст. к.б.н. Борок.—22 с.
- Еремкина Т. В. (2014): Фитопланктон водохранилищ Среднего Урала в современных условиях// Водоросли: проблемы таксономии, экологии и использование в мониторинге. Сборник материалов докладов III Международной научной конференции, 24—29 августа 2014 года / Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина. Ярославль: Филигрань. С. 143-145.
- Еремкина Т. В., Ярушина М. И. (2010): Сукцессия фитопланктона в горных озерах Южного Урала в условиях антропогенного эвтрофирования// Современные проблемы гидроэкологии: Тезисы докладов 4-й Междунар. науч. конф., посвященной памяти проф. Г. Г. Винберга.—С.-Петербург, 11-15 октября 2010 г.—СПб.—С. 62.
- М. Ф. (2019): Изиметова Современное экологическое состояние Средне-Тавдинских области // Современные Свердловской проблемы и перспективы развития рыбохозяйственного комплекса: материалы VII научно-практической конференции молодых учёных с международным участием / Под ред. И.И. Г К.А. Жуковой, К.К. Киввы, А.М. Сытова, Д.М. Палатова — М.: Изд-во ВНИРО. — С. 169-172 И.И. Гордеева,
- Оксиюк О. П., Стольберг Ф. В. (1986): Управление качеством воды в каналах. Киев: Наукова думка. 176 с.
- Снитько Л. В. (2009): Экология и сукцессия фитопланктона озер Южного Урала. Миасс: ИГЗ УрО PAH. 2009. 376 с.
- Справочник по водным ресурсам СССР: Урал и Южное Приуралье (1936). Л. М.—Т. 12.—Ч. 1.— 664 с.

### Ю.Н. Зыкова, А.Л. Ковина, Л.В. Трефилова

### МЕТОДЫ СОХРАНЕНИЯ МУЗЕЙНЫХ ШТАММОВ ЦИАНОБАКТЕРИЙ В ЖИЗНЕСПОСОБНОМ СОСТОЯНИИ

Вятский государственный агротехнологический университет, Киров, Россия, orewek7@rambler.ru,

Цианобактерии (ЦБ) в процессе эволюции приспосабливались к изменяющимся условиям, расширяя тем самым свои адаптационные возможности [8]. Физиологические особенности многих видов ЦБ позволяют сохранять клетки в жизнеспособном состоянии в течение многих лет. Впервые это было установлено при оживлении образцов культуры Nostoc commune после 107-летнего хранения в гербарии. При обезвоживании у N. commune сохраняется вся организация клеток, происходит гелификация цитоплазмы при полном сохранении жизнеспособности [12, 13]. Перед исследователями стоит задача найти оптимальные способы культивирования и хранения ЦБ с целью их дальнейшего использования в разных направлениях. Большое значение при выборе способов культивирования и хранения имеет конечная цель, это, например, накопление биомассы клеток, получение определенного метаболита или последующее использование ЦБ в составе консорциумов.

Цель работы – определить наиболее оптимальные методы и способы культивирования и хранения музейных штаммов цианобактерий

В работе использованы пять штаммов ЦБ из коллекции ВятГАТУ, порядок: *Microchaeta tenera* (Thur.) Elenk шт. 265, *Nostoc linckia* (Roth.) Born. et Flah шт. 271, *Nostoc muscorum* (Ag.) Elenk

шт. 21, *Nostoc paludosum* (Kütz.) Elenk шт. 18 и порядок Stigonematales – *Fischerella muscicola* (Thur.) Gom. шт. 300. ЦБ были отобраны из коллекции согласно результатам предыдущих исследований [1, 3, 4, 6, 7, 9, 11]. Накопительные культуры ЦБ выращивали в безазотистой среде Громова № 6 в люминостате при освещенности 2000–3000 люкс и температуре 22–25  $^{\circ}$ С или на окнах в зависимости от целей опыта следующими способами: в колбах Эрленмейера объемом 100–250 мл в жидкой среде; и в одноразовых контейнерах объемом 200 см $^{3}$  с разными наполнителями (субстратами).

В качестве субстратов использовали опилки, мох *Sphagnum medium* Limpr., почву и полужидкую агаризованную питательную среду. Для анализа жизнеспособности клеток ЦБ сравнивали 1-1,5 месячные культуры с культурами разных сроков хранения и культивирования, а также с высушенными так называемыми корочками ЦБ, которые предварительно замачивали в среде Громова N26 без азота. Численность клеток ЦБ определяли при помощи прямого счета под микроскопом на мазках, а также в камере Горяева. Жизнеспособность клеток определяли по активности дегидрогеназы тетразольно-топографическим методом [2, 10].

Проведенные исследования по сравнению пяти способов культивирования ЦБ показали преимущество выращивания ЦБ в пластиковых контейнерах в полужидкой агаризованной среде, где размножение ЦБ было максимальным Так, наихудший результат был получен в варианте с использованием для культивирования ЦБ мха сфагнум и опилок. В этом случае отмечено отставание в росте популяции *N. paludosum* по сравнению с агаризованной средой. В почве наблюдали более активные темпы роста численности клеток ЦБ. Максимально приближенные к агаризованной среде показатели численности клеток наблюдали в варианте с смешанным субстратом. При проведении полевых опытов с использованием в качестве интродуцента ЦБ нами было доказано, что полужидкая агаризованная культура оказалась наиболее дешевым материально менее затратным и эффективным способом применения [9].

Параллельно с поиском оптимальных способов культивирования ЦБ, мы решали задачу длительного сохранения культур в жизнеспособном состоянии [5].Для этого исследовали жизнеспособность клеток ЦБ после двух способов высушивания: лиофильная сушка и высушивание в естественных условиях. Жизнеспособность клеток оказалась на уровне 50-60%. При воздушно сухом высушивании ЦБ наибольший процент жизнеспособных клеток был обнаружен в культурах *N. linckia и F. muscicola*, который колебался в пределах 91-95% соответственно. Вероятно, именно для этих культур можно использовать высушивание в естественных условиях как форму длительного и наиболее дешёвого способа хранения музейных штаммов. Однако, даже при небольшой сохранности жизнеспособных клеток (*N. paludosum, N. muscorum* и *М. tenera*) можно, регулируя условия инкубирования, нарастить необходимую биомассу ЦБ для дальнейшего их использования вразличных направлениях агробиотех нологии. Использование герметичных пластиковых контейнеров для выращивания ЦБ в полужидкой агаризованной среде даёт возможность сохранять клетки в активном вегетирующем состоянии, поскольку подобный метод хранения исключает эффект высушивания.

Таким образом нами было установлено следующее:

- 1. Лучшим наполнителем при культивировании ЦБ является полужидкая агаризованная среда Громова № 6 без азота.
- 2. Лиофилизация цианобактериального инокулюма сохраняет жизнеспособность клеток на уровне 50-60%.
- 3. При хранении в высушенном состоянии только у двух культур ЦБ (*N. linckia* и *F. muscicola*) жизнеспособность клеток была на уровне 91,38-95,95%.
- 4. Показано преимущество контейнерной препаративной формы при использовании которой исключается процесс высушивания самого препарата перед употреблением и возможно сохранение более высокого титра бактерий длительное время (в течение 10 лет).
- Горностаева Е.А., Домрачева Л.И., Ковина А.Л., Трефилова Л.В. Перспективы биотехнологического использования цианобактерий // Биотехнология от науки к практике. Матер. Всероссийская конф. С междунар. Участием. Т. 1. Уфа: Башкирский ГУ. 2014. С. 98–101.
- Домрачева Л.И., Кондакова Л.В., Ашихмина Т.Я., Огородникова С.Ю., Олькова А.С., Фокина А.И. Применение тетразольно-топографического метода определения дегидрогеназной активности цианобактерий в загрязнённых средах // Теоретическая и прикладная экология, 2008. № 2. С. 23-28.

- Домрачева Л.И., Лебедева О.А., Кожевин П.А. Особенности альгобактериального комплекса при цветении почв// Вести МГУ сер. 17. 1986. № 3. С. 38-43.
- Зыкова Ю.Н. Комплексы водорослей, цианобактерий и грибов городских почв и их реакции на действие поллютантов. Автореф. канд. биол. наук. Москва, 2013. 22 с.
- Зыкова Ю.Н., Трефилова Л.В. Сохранение жизнеспособности у высушенных культур цианобактерий // Механизмы устойчивости и адаптации биологических систем к природным и техногенным факторам: сб. материалов Всероссийской научн. конф. Киров: изд-во ООО «ВЕСИ», 2015. С. 101-103.
- Ковина А.Л. Микробные агроконсорциумы на основе цианобактерий: Автореф. ... дис. канд. биол. наук. М., 2001. 23 с.
- Панкратова Е.М., Трефилова Л.В. Симбиоз как основа существования цианобактерий в естественных условиях и в конструируемых системах // Теоретическая и прикладная экология, 2007, №1. С. 4-14.
- Трефилова Л.В. Использование цианобактерий в агробиотехнологии Автореф. ... дисс. канд. биол. наук. Саратов, 2008. 25 с.
- Фокина А.И., Домрачева Л.И., Зыкова Ю.Н., Скугорева С.Г., Лялина Е.И., Трефилова Л.В. Совершенствование тетразольно-топографического метода биотестирования с использованием цианобактерий // Теоретическая и прикладная экология, №1. 2017. С. 31-41.
- Шестакова М.В., Ковина А.Л. Изучение ростстимулирующего и защитного действия цианобактерии *Fischerella muscicola* при проращивании семян декоративного подсолнечника и гороха // Знания молодых будущее России. Мат. Междунар. студ науч. конф.: Сб. научн. тр. В 2 ч. Ч. 1., книга 1. Агрономические, биологические науки. Киров: ФГБОУ ВПО Вятская ГСХА, 2014. С. 111-113.
- Штина Э.А., Голлербах М.М. Экология почвенных водорослей. М.: Наука, 1976. 143 с.
- Parker B., Schanen N., Renner R. 1969. Viable soil algae from herbarium of the Missouri Botanical Garden. Ann. Missouri Bot. Garden, 56, N 2, 11.
- Watanabe A. Nitrogen fixation by algae// Practical Significance of algae in Japan. Adv. Phycol. Japan. Sena. 1975. P. 255-272.

### Т.В. Ицык<sup>1,2</sup>, К.К. Горин<sup>1,2</sup>

# ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ СВЕДЕНИЯ О БЕНТОСНЫХ ЦИАНОПРОКАРИОТАХ ПРИБРЕЖНОЙ ЗОНЫ ОСТРОВА ГОГЛАНД (ФИНСКИЙ ЗАЛИВ, БАЛТИЙСКОЕ МОРЕ)

T.V. Itsyk<sup>1,2</sup>, K.K. Gorin<sup>1,2</sup>,

# PRELIMINARY DATA ABOUT BENTHIC CYANOPROKARYOTES OF THE COASTAL ZONE OF GOGLAND ISLAND (GULF OF FINLAND, BALTIC SEA)

<sup>1</sup>Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена, Санкт-Петербург, Россия, tanyaitic@gmail.com; gorinbio@gmail.com

<sup>2</sup>Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия, tanyaitic@gmail.com; gorinbio@gmail.com

Остров Гогланд находится в 180 км к западу от Санкт-Петербурга и 43 км к югу от Котки (Финляндия), его территория представляет собой узкую скалистую скалистую гряду около 11 км длиной и 1,5-3 км шириной (Зиновкин с соавт., 2018). Остров имеет имеет богатую геологическию историю и сложен вулканическими и метаморфическими породами, а прибрежные ландшафты в основном представлены скалистыми берегами и валунными пляжами со слабо развитой высшей водной растительностью (Соколова, 2014).

Исследования флоры бентосных цианопрокариот прибрежий острова ранее не проводилось.

Материалом для настоящей работы послужили качественные пробы бентосных цианопрокариот с рыхлых грунтов, каменистых субстратов, высших водных растений и водорослей отобранные с 6 станций в прибрежной зоне острова Гогланд в период с 18.06. по 29.06.2020 г. на глубинах от 0 до 2 м.

Определение видов производилось с помощью определителей Беляковой с соавт. (2006), J. Komárek, K. Anagnostidis (Komárek, Anagnostidis, 1997, 2005) и J. Komárek (Komárek, 2015).

Выявлено 18 видов из 12 родов, 9 семейств и 7 порядков. Наибольшим таксономическим разнообразием отличились порядки Leptolyngbyales Strunecky et Mares и Nostocales Borzì (6 видов из 2 родов и 1 семейства и 6 видов из 4 родов и 3 семейств, соответственно). Oscillatoriales Schaffn. был представлен 2 видами из 2 родов и 1 семейства. Остальные порядки содержали по 1 виду из 1 рода.

В изученном видовом составе обнаружено 6 солоноватоводных видов, по 3 пресноводных и пресноводно-солоноватоводных вида, а также 1 эвригалинный (*Nodularia spumigena* Mert. ex Born. et Flah.). Для 5 видов галобные характеристики не установлены.

Наиболее богато, в видовом отношении, цианопрокариоты были представлены в ассоциациях с макро и микроводорослями (9 видов — 50%). Основу видового состава эпифитона составляли представители мелких нитчатых цианопрокариот из родов Heteroleibleinia (Geitl.) Hoffm., Leptolyngbya Anagn. et Komárek и Pseudanabaena Lauterborn. Помимо них, среди нитей водорослей были отмечены планктонные виды: Aphanizomenon flos-aquae Ralfs ex Born. et Flah., Woronichinia compacta (Lemmerm.) Komárek et Hindak, N. litorea Thur. ex Komárek, M.Hübel, H.Hübel et Smarda. Исключительно в эпилитоне (на каменистых субстратах) встречались виды Oscillatoria annae Goor и Rivularia atra Roth ex Born. et Flah. Значительное количество видов (6 видов — 33%) не были приурочены к одному местообитанию. Так произрастающие совместно эпилитные виды Calothrix contarenii Born. et Flah. и Gloeocapsopsis crepidinum (Thur.) Geitl. ex Komárek, помимо каменистых субстратов вегетировали на песчаных грунтах и макроводорослях. Одновременно в эпифитоне и эпилитоне были выявлены Calothrix scopulorum C. Agardh ex Born. et Flah., Leptolyngbya foveolarum (Gomont) Anagn. et Komárek и Phormidium cf. bulgaricum (Komárek) Anagn. et Komráek. Планктоннобентосный вид *N. spumigena* отмечен на каменистых и рыхлых субстратах.

Самым широко распространённым видом, встреченным на всех станциях стал *Heteroleibleinia kossinskajae* (Elenkin) Anagn. et Komárek. Помимо него, в прибрежьях острова в 4 изученных точках из 5 встречался *C. scopulorum*, *H. willei* (Setch. et N.L.Gardner) Guiry et D.M.John и *P.* cf. *bulgaricum*. 10 видов произрастали локально и не были распространены в прибрежьях острова.

- Белякова Р.Н., Волошко Л.Н., Гаврилова и др. (2006) —Водоросли, вызывающие «цветение» водоемов Северо-Запада России М.: Товарищество научных изданий КМК. 367 с.
- Зиновкин В., Романова Н., Гайдук Н. и др. (2018): Общая физико-географическая характеристика острова Гогланд Ленинградская земля: краеведческий альманах 1: 189-194.
- A. A. (2014): Соколова, Ландшафты природопользования и система острова Гогланд (Финский залив) в финской и русской топонимии — Проблемы vстойчивости эколого-хозяйственных и социально-культурных систем трансграничных регионов — Материалы международной научно-практической конференции, 20-21 ноября 2014 года: 200-210.
- Komárek J. & Anagnostidis K. (1998) Cyanoprokaryota. 1. Teil. Part: Chroococcales Berlin: Spektrum. 548 pp.
- Komárek J. & Anagnostidis K. (2005) Cyanoprokaryota. 2. Teil. Part: Oscillatoriales Berlin: Spektrum. 759 pp.
- Komárek J. (2013) Cyanoprokaryota. 3. Teil. 3rd part: Heterocytous genera. Berlin: Springer Spektrum. 1133 pp.

#### Д.А. Капустин, М.С. Куликовский

### П.М. ЦАРЕНКО (1956–2023) И ЕГО ВКЛАД В АЛЬГОЛОГИЮ

D.A. Kapustin, M.S. Kulikovskiy

### P.M. TSARENKO (1956–2023) AND HIS CONTRIBUTION TO THE PHYCOLOGY

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия, phycology@mail.ru

Пётр Михайлович Царенко родился 12 июля 1956 г. в с. Смельчинцы Черкасской области (Украина). В 1973 г. он поступил на биологический факультет Киевского университета. Будучи еще студентом, П.М. устраивается на работу в Институт ботаники АН УССР (ныне — Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины). В 1979 г. он отправляется на годовую стажировку к В.М. Андреевой в Ботанический институт им. В.Л. Комарова (г. Санкт-Петербург), и по возвращении поступает в аспирантуру. Его научным руководителем была Г.М. Паламарь-Мордвинцева, известный украинский альголог. В 1984 г. П.М. защитил кандидатскую диссертацию на тему «Хлорококковые водоросли водоемов Украинского Полесья». В 1996 г. П.М. Царенко защищает докторскую диссертацию на тему «Хлорококковые водоросли (Chlorococcales, Chlorophyta) водоёмов Украины (флора, морфология, экология, основные направления эволюции и принципы систематики)».

В 2002 г. П.М. становится заведующим отдела фикологии (с 2016 г. — отдел фикологии, лихенологии и бриологии) Института ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины, в 2006 г. ему присваивают учёное звание профессора, а в 2018 г. — избирают членом-корреспондентом Национальной академии наук Украины. Умер П.М. Царенко 21 января 2023 г. в г. Краков (Польша).

В научной деятельности П.М. Царенко можно выделить три основных направления: флористико-таксономическое, альгосозологическое (охрана водорослей) и прикладное. Подробнее каждое из этих направлений будет охарактеризовано в нашем докладе.

П.М. Царенко был признанным специалистом по систематике зелёных коккоидных водорослей. Им описан новый род *Acutodesmus*, 8 новых видов и внутривидовых таксонов, а также предложено более 100 новых номенклатурных комбинаций.

Под руководством П.М. защищено шесть диссертаций на соискание ученой степени кандидата биологических наук и одна — доктора философии.

В честь П.М. названы три вида диатомовых водорослей: *Nitzschia tsarenkoi* Lange-Bertalot, *Buryatia tsarenkoi* Kulikovskiy, Metzeltin & Lange-Bertalot и *Fallacia tsarenkoi* Kulikovskiy, Lange-Bertalot & Metzeltin.

Е.М. Кезля, М.С. Куликовский

# НОВАЯ ИНФОРМАЦИОННАЯ СИСТЕМА МИКРОВОДОРОСЛЕЙ И ЦИАНОБАКТЕРИЙ РОССИИ ALGABANK

E.M. Kezlya, M.S. Kulikovskiy

#### NEW INFORMATION SYSTEM OF MICROALGAE AND CYANOBACTERIA OF RUSSIA ALGABANK

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Россия, melosira@mail.ru, max-kulikovsky@yandex.ru

Обеспечение нуклеотидных последовательной визуализированными контрольными образцами таксонов с корректной идентификацией до уровня вида и метаданными о состоянии окружающей среды является основой для успешного применения современных технологий штрихкодирования, секвенирования следующего поколения (NGS) и биоинформатики в биоиндикации, изучении биогеографии, внутривидового генетического разнообразия, видообразования и т.п. Однако разнообразие микроводорослей очень велико, а получение качественных референсных последовательностей достаточно длительный и трудоемкий процесс, связанный со сложностями в выращивании моноклональных культур, трудностями с ПЦР и идентификацией, зачастую требующей применения сканирующей и/или трансмиссионной микроскопии.

Информационная система AlgaBank создана в 2022 году базе коллекции культур микроводорослей лаборатории молекулярной систематики водных растений Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН. Создание коллекции монокультур микроводорослей было начато Максимом Сергеевичем Куликовским в 2011г. Первые штаммы были выделены из проб, привезенных из экспедиций по России (озеро Байкал, Рыбинское водохранилище), а также из проб, отобранных во Вьетнаме. Позднее коллекцию дополнили штаммы из разных стан мира Индонезии, Монголии, Арктики, Эфиопии, Японии, Индии, Монголии, Испании. Масштабный сбор и обработка материала проведены в России: Камчатка, Дальний Восток, Урал, озеро Байкал, Крым, Краснодарский край, Абхазия, Осетия, Карелия, Мордовия, Кабардино-Балкария, водоёмы г. Москвы и Московской области. В состав коллекции входят штаммы, выделенные сотрудниками лаборатории из природных образцов воды (пресные и солёные водоёмы), почвы, обрастаний растений и искусственных субстратов. Каждый штамм идентифицирован специалистами лаборатории и хорошо задокументирован (получены нуклеотидные последовательности по основным маркерным генам, проведена фотофиксация, имеется информация о месте отбора образцов и условиях окружающей среды).

AlgaBank—это электронный ресурс с открытым доступом (https://algabank.ru/), который соединяет нуклеотидные последовательности штамма с его изображением и данными по таксономии и экологии. Заполнение и курирование данных проводится сотрудниками лаборатории молекулярной систематики водных растений ИФР РАН.

**Логотип.** На логотипе AlgaBank изображены схематичные клетки коричневого, зеленого, желтого и сине-зеленого цветов (соответствуют группам водорослей—диатомовые, зеленые, золотистые, сине-зеленые), они расположены по линии раскручивающейся спирали, что отражает бесконечное разнообразие микроводорослей и цианобактерий, открытие новых таксонов и развитие этой информационной системы.

**О** структуре сайта. На главной странице с правой стороны и на верхней статической панели расположено меню сайта. Каждая кнопка отправляет на отдельную функциональную страницу: «Каталог штаммов», «Библиотека штрихкодов», «Статистика», «Питательные среды», «Контакты, ссылки».

Страница «Каталог штаммов» имеет 2 типа отображения: значки (изображения микроводорослей) и список. В списке представлены следующие категории информация о штаммах: номер штамма, номер постоянного препарата (для диатомовых водорослей), название таксона, авторы, страна изоляции, место изоляции, тип местообитания, нуклеотидные последовательности (18S rDNA, *rbc*L, ITS, LSU rDNA, 16S rRNA). С левой стороны страницы «Каталог штаммов» расположены Кнопка «Поиск» и меню классификатор с контекстным меню. Кнопка «Поиск» позволяет найти штаммы по названию вида или рода. С помощью панели меню классификатора можно сделать выборку штаммов по определенным категориям. Таксономический фильтр позволяет найти штаммы по таксонам на уровне классов, порядков, семейств, родов. Также, можно выбрать штаммы по типу местообитания (пресноводные, морские, солоноватоводные, почвенные, наземные) и по наличию в базе нуклеотидных последовательностей (18S rDNA, *rbc*L, ITS, LSU rDNA, 16S rRNA).

Нажатие на изображение штамма отправляет на страницу штамма, где представлены его изображения со светового и, для части штаммов, со сканирующего электронного микроскопов. Нажатие на изображение на странице штамма увеличивает его. В правом углу страницы просмотра изображения расположены функциональные значки: нажатие на значок «стрелки» позволяет просматривать из изображение в режиме слайд-шоу, значок меню открывает панель имеющихся изображений.

Информацию о штамме мы разместили в трех вкладках. Вкладка «Таксономия» содержит подробную информацию о таксономическом положении вида с указанием всех таксономических категорий (отдел, класс, порядок, семейство, род, вид), таксономический статус названия (принятое или нет), информацию о базиониме и синонимах, данными об изоляторе, год изоляции, питательная среда на которой поддерживается штамм и аутентичность. Внизу страницы приводятся ссылки на публикации с использованием в исследованиях данного штамма. Во вкладке «Экология» размещены данные о месте происхождения штамма (страна, место изоляции, координаты, местообитание, жизненная форма, основные показатели окружающей среды (рН, электропроводность, общее содержание биогенных элементов—азота, фосфора), температура воды или воздуха (для почвеных, наземных штаммов). Внизу вкладки мы расположили карту, на которой отмечена точка сбора природного образца, из которого выделен данный штамм. Во вкладке «Молекулярные данные» собрана информация об имеющихся для данного штамма нуклеотидных последовательностях с указанием генетического региона и длины. Если последовательность депонирована в GenBank, приводится прямая ссылка. Последовательности нуклеотидов можно будет скачать на устройство пользователя в формате FASTA, нажав на соответствующую кнопку.

Станица «Библиотека штрихкодов» создана для работы с нуклеотидными последовательностями. Поле «Поиск» позволяет осуществить сортировку по интересующему признаку (таксон, генетический маркер) или найти конкретный штамм. Планируется создание классификатора для расшифровки данных метабаркодинга. На странице «Статистика» приведены данные о наполнении информационной системы (количество видов, штаммов, последовательностей и т.п.)

В настоящее время идет активное заполнение информационной системы. Мы приглашаем к сотрудничеству коллег для пополнения AlgaBank своими данными. Нуклеотидные последовательности, связанные с достоверно идентифицированным таксоном и метаданными, послужат основой для реализации применения молекулярных методов для идентификации водорослей и расшифровки данных метабаркодинга водорослей России.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 22-24-00965.

#### Е.В. Коваль<sup>1</sup>, С.Ю. Огородникова<sup>2</sup>

# ОЦЕНКА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ЦИАНОБАКТЕРИЙ К ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИМ ПОЛЛЮТАНТАМ

E.V. Koval<sup>1</sup>, S.Yu. Ogorodnikova<sup>2</sup>.

### **EVALUATION OF SENSITIVITY OF CYANOBACTERIA TO ORGANOPHOSPHORUS POLLUTANTS**

<sup>1</sup>Государственный аграрный университет Северного Зауралья, Тюмень, Россия, undina2-10@yandex.ru

<sup>2</sup>Институт биологии Коми научного центра УрО РАН, Сыктывкар, Россия, svetao\_05@mail.ru

Цианобактерии обладают широким спектром адаптационных возможностей, увеличивают устойчивость растений в стрессовых условиях, а также удобны для использования в биотехнологии, что определяет их потенциал в диагностике токсичности природных сред и объектов (Домрачева и др., 2020; Koval, Ogorodnikova, 2023). Известно, что в присутствии поллютантов в клетках цианобактерий (ЦБ) происходят функциональные изменения, в частности изменение количества хлорофилла а, биохемилюминесценции и активности процессов перекисного окисления липидов — маркера окислительного стресса (Fokina at all, 2017). В ряде исследований показана высокая чувствительность ЦБ к действию ТМ, редкоземельных элементов, пестицидов (Сысолятина и др., 2022). Подобные эффекты позволяют рассматривать ЦБ как тест-организмы для оценки токсичности химических веществ, поэтому целью работы было сравнить чувствительность разных видов ЦБ к действию фосфорорганических соединений — метилфосфоновой кислоты (МФК) и гербицида глифосата.

Для экспериментов использовали альгологически чистые культуры ЦБ *Nostoc linckia*, *N. muscorum* и *N. paludosum* и многовидовые биопленки с доминированием *N. commune*. В течение суток культуры микроорганизмов выдерживали на растворах МФК и глифосата в концентрациях  $1\cdot10^{-5}$ ;  $1\cdot10^{-4}$ ;  $2.5\cdot10^{-4}$ ;  $5\cdot10^{-4}$ ;  $7.5\cdot10^{-4}$ ;  $1\cdot10^{-3}$ ;  $4\cdot10^{-3}$ ;  $4\cdot10^{-2}$ ;  $1\cdot10^{-1}$  моль/л.

Спектрофотометрически стандартными методами определяли накопление в ЦБ и биопленках уровня хлорофилла *а* и интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) по содержанию малонового диальдегида (Koval, Olkova, 2022).

Установлено, что под действием растворов глифосата и МФК в диапазоне концентраций  $(1\cdot10^{-4}-1\cdot10^{-3}\text{ моль/л})$  происходило изменение интенсивности процессов ПОЛ и уровня хлорофилла а в клетках ЦБ. МФК в большинстве опытных вариантов стимулировала накопление хлорофилла a, тогда как глифосат вызывал снижение содержания зеленого пигмента в клетках ЦБ. Однако линейной зависимости доза — реакция не установлено. Показатель содержания хлорофилла a в клетках цианобактерий более чувствителен к действию метилфосфонатов, чем интенсивность процессов ПОЛ в их клетках, что может быть использовано при биотестировании.

При оценке влияния МФК и глифосата на альгологически чистые культуры ЦБ было установлено, что наибольшей чувствительностью отличается вид *N. paludosum*, что проявилось в значительном изменении содержания хлорофилла *a* и накоплении продукта ПОЛ (при действии МФК самой высокой концентрации). В опыте с природными многовидовыми биопленками с доминированием ЦБ, с ростом концентрации токсиканта отмечали значительное уменьшение накопления хлорофилла *a*. Снижение содержания хлорофилла *a* в большинстве опытов сопровождалось повышением накопления продуктов ПОЛ в клетках ЦБ, что свидетельствует об окислительной деструкции молекул пигмента.

МФК в концентрациях  $4\cdot10^{-3}$  моль/л и более оказывала летальное действие на альгологически чистые культуры ЦБ *N. linckia*, *N. muscorum* и *N. paludosum* и на природные биопленки с доминированием *N. commune*. Глифосат в концентрациях  $1\cdot10^{-2}$  моль/л и более вызывал разрушение хлорофилла и гибель клеток биопленок с доминированием *N. commune*, что свидетельствует о большей токсичности для ЦБ глифосата, чем МФК.

На основе изучения ответных реакций установлено, что альгологически чистые культуры ЦБ наиболее устойчивы к действию метилфосфонатов, по сравнению с многовидовыми биопленками с доминированием *N. commune*. Высокая чувствительность биопленок к действию метилфосфонатов объясняется их переносом в условия водной среды и последующей гомогенизацией, в результате

которых на действие токсикантов реагируют отдельные клетки, а не сообщество в целом. В ряду N. linckia — N. muscorum — N. paludosum устойчивость цианобактерий к действию метилфосфоновой кислоты и глифосата снижается.

Работа выполнена в рамках государственного задания Института биологии Коми НЦ УрО РАН по теме «Структура и состояние компонентов техногенных экосистем подзоны южной тайги».

- Домрачева Л.И., Зыкова Ю.Н., Трефилова Л.В., Ковина А.Л. (2020): Использование почвенных цианобактерий в агрономической практике. В: Симбирских, Е.С. (ред.), Инновационное развитие агропромышленного комплекса как фактор конкурентоспособности: проблемы, тенденции, перспективы. Киров, Вятская государственная сельскохозяйственная академия. С. 22—39.
- Сысолятина М.А., Олькова А.С., Коваль Е.В. (2022): Оценка токсичности редкоземельных элементов La и Се по ответным реакциям цианобактерий. *Химическая безопасность* 6 (1): 190—197.
- Koval, E. V. & Ogorodnikova, S. Yu. (2023): Treatment of seeds with cyanobacterial biofilm to increase plant resistance to methylphosphonate pollution. *Ecosystem Transformation* 1(19): 3—11.
- Koval, E. & Olkova, A. (2022): Determination of the sensitivity of cyanobacteria to rare earth elements La and Ce. *Pol. J. Environ. Stud.* 31 (1): 985—988.
- Fokina, A.I. & Ogorodnikova, S.Y. & Lyalina, E.I. & Gornostaeva, E.A. & Ashikhmina, T.Y. & Kondakova, L.V. & Domracheva, L.I. (2017): Cyanobacteria as test organisms and biosorbents. *Eurasian Soil Science* 50 (1): 70—77.

#### О.А. Кокшарова, Н.А. Сафронова

### БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ И ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ НЕЙРОТОКСИЧНОЙ АМИНОКИСЛОТЫ ВМАА

O.A. Koksharova, N.A. Safronova

#### BIOACTIVITY AND ECOLOGICAL SIGNIFICANCE OF NEUROTOXIC AMINO ACID BMAA

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, koksharova@belozersky.msu.ru, safronova.nina2007@mail.ru

Способность синтезировать метаболиты возникла в эволюции микроорганизмов задолго до появления высших форм жизни. Предполагается, что эти молекулы могут иметь биологические функции, позволяющие микроорганизмам выживать в изменяющихся экологических условиях. Некоторые из этих соединений (пептиды, небелковые аминокислоты и алкалоиды) токсичны для человека, что делает актуальными исследования причин и условий синтеза этих молекул, их биологической роли и механизмов действия на живые клетки.

Исследования, посвященные изучению небелковой аминокислоты, бета-N-метиламин-L-аланин (ВМАА), развиваются наиболее интенсивно в течение последних 20 лет главным образом в медицинском и экологическом аспектах (Koksharova, Safronova, 2022). Эту аминокислоту синтезируют цианобактерии, диатомовые водоросли, а также, вероятно, растения. Особое внимание исследователей к ВМАА обусловлено тем, что биоаккумуляция этой аминокислоты по цепям питания может приводить к поражению моторных нейронов животных и человека (Сох et al., 2003). Предполагаемые механизмы действия ВМАА на клетки животных разнообразны: это и связывание с глутаматными рецепторами, и индукция окислительного стресса, и ошибочное встраивание в белки вместо серина (Koksharova, Safronova, 2022). Очевидно, что синтез ВМАА фитопланктоном представляет собой потенциальную угрозу здоровью человека, поскольку аминокислота попадает в морепродукты, на орошаемые токсичной водой поля и поглощается растениями. Какова физиологическая необходимость для цианобактерий расходовать энергию для синтеза ВМАА? Каково значение ВМАА в природе и в жизни самих цианобактерий?

Условия, приводящие к индукции и усилению синтеза ВМАА, изучались лишь в одной работе (Downing et al., 2011). В этом исследовании использовались одноклеточные недиазотрофные цианобактерии *Microcystis* PCC7806 и *Synechocystis* J341. С помощью применения изотопа 15N было показано, что ВМАА начинает синтезироваться в условиях голодания по азоту. В другой работе этих же авторов изучалось действие экзогенного ВМАА на другую одноклеточную цианобактерию *Synechocystis* sp. PCC 6803. Было показано, что ВМАА подавляет рост цианобактерии и вызывает хлороз

(Downing et al., 2012). В работе (Berntzon et al., 2013) было показано, что добавление ВМАА к клеткам нитчатой азотфиксирующей цианобактерии *Nostoc* sp. PCC 7120 приводит к снижению активности нитрогеназы.

Мы подтвердили этот результат и впервые обнаружили, что добавление ВМАА к цианобактерии Nostoc sp. PCC 7120, уже имеющей зрелые гетероцисты, приводит к ингибированию экспрессии гена nifH, кодирующего важный компонент нитрогеназы (динитрогеназа-редуктазу) – фермента азотфиксации. Нам удалось экспериментально показать, что добавление микромолярных количеств экзогенного ВМАА к клеткам нитчатых цианобактерий приводит к изменению экспрессии их генов, контролирующих процессы клеточной дифференцировки и азотного метаболизма (для обзора (Koksharova, Safronova, 2022)). Дальнейшая наша работа была нацелена на выяснение особенностей регуляторного действия ВМАА на протеом цианобактерии Nostoc sp. PCC 7120. Сравнивались протеомы контрольных клеток (не обработанных ВМАА) и клеток, к которым добавляли ВМАА (20 мкМоль) в трех условиях роста, отличающихся по доступности связанного азота (Koksharova et al., 2020a,b,2021). Протеомные данные позволили установить, что добавление ВМАА к клеткам в диазотрофных условиях роста приводит к сильному (до 80%) подавлению экспрессии субъединиц фермента нитрогеназы, отвечающего за осуществление процесса азотфиксации; резко снижается содержание 18 белков, входящих в состав комплексов обеих фотосистем (ФС1 и ФС2), цитохром-b6f-комплекса, антенных пигментных комплексов. Наиболее существенное различие в экспрессии белков при сравнении действия ВМАА в условиях голодания по азоту и в условиях избытка азота состоит в регуляции ключевого регуляторного белка PII. Во время азотного голодания экспрессия этого белка подавляется, но она активируется в богатых азотом условиях роста. Можно сделать вывод о том, что добавление ВМАА к клеткам цианобактерии приводит к дисбалансу энергии и метаболитов азота и углерода, что индуцирует серьезный внутриклеточный стресс. Он проявляется в повышенном содержании активируемых стрессом белков, белков SOS-ответа и ферментов репарации ДНК, различных протеаз и, в конечном счете, ведет к апоптозу. Полученные результаты позволяют сформулировать гипотезу о возможном экологическом аспекте действия ВМАА на развитие сообществ цианобактерий. В периоды жесткой конкуренции за источники питательных веществ различные представители цианобактерий и диатомовых водорослей могут использовать ВМАА в качестве аллелопатического инструмента для контроля численности цианобактериальных популяций. Клетки азотфиксирующих цианобактерий подвергаются лизису уже в присутствии микромолярных количеств ВМАА. В результате высвобождаются растворенные органические соединения, в которых нуждается сообщество микроводорослей.

- Berntzon L., Erasmie S., Celepli N., Eriksson J., Rasmussen U. and Bergman B. (2013): BMAA Inhibits Nitrogen Fixation in the Cyanobacterium *Nostoc* sp. PCC 7120. —*Mar. Drugs*. 11: 3091—3108
- Cox P.A., Banack S.A., Murch S.J. (2003): Biomagnification of cyanobacterial neurotoxins and neurodegenerative disease among the Chamorro people of Guam. —*Proc.Natl. Acad. Sci. USA*. 100: 13380—13383.
- Downing, S.; Banack, S. A.; Metcalf, J. S.; Cox, P. A.; Downing, T. G. (2011): Nitrogen starvation of cyanobacteria results in the production of beta-N-methylamino-L-alanine. *Toxicon* 58: 187—194
- Downing S., M. van-de Venter, T. G. Downing (2012): The Effect of Exogenous beta-N-Methylamino-L-alanine on the Growth of *Synechocystis* PCC 6803. *Microb Ecol*. 63:149—156
- Koksharova, O.A. & Safronova, N.A. (2022): Non-Proteinogenic Amino Acid β-N-Methylamino-L-Alanine (BMAA): Bioactivity and Ecological Significance. —*Toxins* 14 (8): 539—567
- Koksharova, O.A.; Butenko, I.O.; Pobeguts, O.V.; Safronova, N.A.; Govorun, V.M. (2021): β-N-Methylamino-L-Alanine (BMAA) Causes Severe Stress in *Nostoc* sp. PCC 7120 Cells under Diazotrophic Conditions: A Proteomic Study. —*Toxins* 13 (5): 325—363.
- Koksharova, O.A.; Butenko, I.O.; Pobeguts, O.V.; Safronova, N.A.; Govorun, V.M. (2020a) Proteomic Insights into Starvation of Nitrogen-Replete Cells of *Nostoc* sp. PCC 7120 under  $\beta$ -N-Methylamino-L-Alanine (BMAA) Treatment. —*Toxins* 12(6):372—396
- Koksharova, O.A.; Butenko, I.O.; Pobeguts, O.V.; Safronova, N.A.; Govorun, V.M. (2020b) The First Proteomics Study of Nostoc sp. PCC 7120 Exposed to Cyanotoxin BMAA under Nitrogen Starvation. —Toxins 12 (5): 310—337.

#### Л.Г. Корнева <sup>1</sup>, Е.Н. Чернова<sup>2</sup>

# ЦИАНОБАКТЕРИАЛЬНОЕ «ЦВЕТЕНИЕ» ВОДЫ В ВОЛЖСКИХ ВОДОХРАНИЛИЩАХ И ЕГО ТОКСИЧНОСТЬ

L.G.Korneva<sup>1</sup>, E.N.Chernova<sup>2</sup>

#### CYANOBACTERIAL "BLOOM" IN THE VOLGA RESERVOIRS AND ITS TOXICITY

<sup>1</sup> Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, Борок, Россия, korneva@ibiw.ru

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский научно-исследовательский центр экологической безопасности РАН— обособленное структурное подразделение ФГБУН «Санкт-Петербургский Федеральный исследовательский центр РАН», Санкт-Петербург, Россия, s3561389@yandex.ru

В результате интенсивной хозяйственной деятельности человека, приводящей к избыточному обогащению водной среды биогенными веществами (фосфором и азотом), наблюдается рост продуктивности (трофии) различных водоемов мира. Эвтрофирование приводит к нарушению экологического баланса, снижению прозрачности воды и дефициту кислорода. Современное изменение планетарного климата (Beardall et al., 2009; Paerl, Huisman, 2008, 2009; Paul, 2008; Peperzak, 2003), которое приводит к увеличению температуры, стратификации, солености и содержания биогенных элементов поверхностных вод (The Impact..., 2010), создает благоприятные условия для массового развития цианобактерий. Усиление «цветения» воды при росте температуры наблюдается особенно в загрязненных водоемах и в меньшей степени — в относительно чистых (Brookes, Carey, 2011).

Антропогенная трансформация волжской геосистемы в результате гидростроительства привела к увеличению в водах водохранилищ минерализации, содержания хлоридов, сульфатов и щелочно-земельных металлов, перераспределению соотношения соединений минерального азота и фосфора (Корнева, 2015). В 1980–90 годы по содержанию хлорофилла а в воде Иваньковское, Горьковское, Чебоксарское водохранилища классифицировали как эвтрофные, Рыбинское — умеренно эвтрофное, Куйбышевское — мезотрофно-эвтрофное, а Угличское, Саратовское и Волгоградское — мезотрофные (Минеева, 2004). В летний период 2015–2018 гг. в сравнении с предшествующими годами трофический статус водохранилищ практически не изменился, за исключением Угличского, которое в 2010-е годы превратилось в водоем эвтрофного типа, что связано с высоким удельным водосбором и его интенсивным антропогенным освоением (Міпееva et al., 2020). Непрерывные многолетние исследования (1953–2016 гг.) на втором по размеру в волжском каскаде Рыбинском водохранилище показали, что численность и пропорция цианобактерий в общей биомассе фитопланктона постепенно увеличивалась (Корнева, 2015; Корнева и др., 2018).

Анализ изменения численности, биомассы и числа видов различных функциональных групп цианобактерий в водохранилищах Волги в 2010-е годы показал, что численность и биомасса диазотрофов *Aphanizomenon flos-aquae* и видов из рода *Dolichospermum* достоверно снижалась в направлении от Верхней к Нижней Волге ( $R^2 = -0.77$ , F = 7.8, p < 0.042 и  $R^2 = -0.91$ , F = 24.57, p < 0.004 соответственно) согласно географической зональности по мере увеличения минерализации воды в Нижней Волге, расположенной в аридной зоне. Биомасса безгетероцистных цианобактерий (видов из родов *Aphanocapsa, Microcystis* и из группы «S» типа) наоборот увеличивалась ( $R^2 = 0.61$ , F = 2.95, P < 0.14). Выявленные тренды подтверждались достоверной отрицательной статистической связью между электропроводностью воды и численностью гетероцистных цианобактерий ( $R^2 = -0.88$ , F = 17.88, P < 0.008) и положительной связью между электропроводностью воды и численностью безгетероцистных цианобактерий ( $R^2 = 0.38$ , R = 10.04, R < 0.004).

Суммарная концентрация внутриклеточных микроцистинов летом 2015–2016 гг., в период массового развития цианобактерий, достигала в среднем до 3.5–4.5. мкг/л при максимальном значении 15–16 мкг/л). В 2017–2018 гг. их концентрация в среднем не превышала 1.4 мкг/л при максимальной величине 4 мкг/л.

Концентрации фосфора (фосфатный фосфор — 0.005-0.3 мг/л, общий фосфор — 0.03-0.40 мг/л) и азота (нитратный азот — 0.001-0.5 мг/л, общий азот — 0.5-2.1 мг/л), а также температура воды (16.4-25.8°C) значительно варьировали в водохранилищах. Вариации основных абиотических факторов определяли широкую изменчивость концентрации хлорофилла a (0.9–69.4 мкг/л), общей (0.09–36.6 мг/л) и цианобактериальной (0.0–36.4 мг/л) биомассы, а также содержания микроцистинов в водохранилищах (0.0-16.4 мкг/л). Наиболее тесная корреляция с концентрацией микроцистинов и с количественными характеристиками фитопланктона и токсигенных цианобактерий из родов Microcystis и Dolichospermum установлена с температурой воды. Коэффициенты корреляции между концентрациями фосфора и показателями развития фитопланктона и цианобактерий, в том числе продуцентов микроцистинов, были статистически незначимыми. Концентрации микроцистинов и показатели фитопланктона и цианобактерий отрицательно коррелировали с содержанием минерального азота. Это свидетельствовало в пользу предположения о большей значимости азота, а не фосфора для роста цианобактерий, микроцистин-продуцирующих видов и фитопланктона в водохранилищах в исследованный период. Отрицательный характер связи между нитратным азотом и количественными показателями цианобактерий/продуцентов микроцистинов указывал на его интенсивное потребление. Известно, что азот входит в состав молекул микроцистинов и во многих исследованиях показана его лимитирующая роль в продуцировании цианотоксина у представителей рода Microcystis (Yoshida et al., 2007). Статистически значимая корреляция была получена только между концентрациями минерального азота и численностью токсигенных видов из рода Microcystis. С потенциальными продуцентами микроцистинов видами из рода Dolichospermum подобная корреляция отсутствовала. Возможно, это было связано со способностью диазотрофных видов Dolichospermum к азотфиксации и их меньшей зависимости от содержания азота в воде.

- Корнева Л.Г. (2015): Фитопланктон водохранилищ бассейна Волги. Кострома: Костромской печатный дом.. 284 с.
- Корнева Л.Г., Соловьева В.В., Митропольская И.В. (2018): Фитопланктон пелагиали Структура и функционирование экосистемы Рыбинского водохранилища в начале XXI века. Москва: РАН. С. 110–123
- Минеева Н.М. (2004): Растительные пигменты в воде волжских водохранилищ. М.: Наука. –156 с.
- Beardall J., Stojkovic S., Larsen S. (2009): Living in a high CO2 world: impacts of global climate change on marine phytoplankton –*Plant Ecol. Div.* 2: 191–205.
- Brookes J.D., Carey C.C. (2011): Resilience to Blooms Sience 334 (6052): 46-47.
- Davis T. W., Berry D. L., Boyer G. L., Gobler C. J. (2009): The Effects of Temperature and Nutrients on the Growth and Dynamics of Toxic and Non-Toxic Strains of *Microcystis* during cyanobacteria blooms *Harmful Algae* 8 (5): 715-725.
- Mineeva N.M., Semadeny I.V., Makarova O.S. (2020): Chlorophyll Content and the Modern Trophic State of the Volga River Reservoirs (2017–2018) *Inland Water Biology* 13 (2): 327–330.
- Paerl H.W., Huisman J. (2008): Bloomslike it hot Science 320: 57-58.
- Paerl H. W., Huisman J. (2009): Climate change: a catalyst for global expansion of harmful cyanobacterial blooms –*Environmental Microbiology Reports* 1 (1): 27–37.
- Paul V.J. (2008): Global warming and cyanobacterial harmful algal bloom Cyanobacterial Harmful Algal Blooms: State of the Science and Research Needs. Springer, New York. 239–257.
- Peperzak L. (2003): Climate change and harmful algal blooms in the North Sea Acta Oecol. 24: 139–144.
- The Impact of Climate Change on European Lakes (2010) Dordrecht, Heidelberg, London, New York, Berlin: Springer (Aquatic Ecology Series Vol. 4) George G. (Ed.) 508 pp.

### А.И. Косякова<sup>1,2</sup>, О.С. Самылина<sup>2</sup>

### ГЕОГРАФИЧЕСКОЕ И ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ РАСПРОСТРАНЕНИЕ ЦИАНОБАКТЕРИЙ РОДА SODALINEMA

A.I. Kosyakova<sup>1,2</sup>, O.S. Samylina<sup>2</sup>

# GEOGRAPHICAL AND ECOLOGICAL DISTRIBUTION OF CYANOBACTERIA OF THE GENUS SODALINEMA

<sup>1</sup> Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия, anastasiaakosyakova@yandex.ru

<sup>2</sup> Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, Россия

Род Sodalinema Cellamare, Charlotte Duval, Touibi, Djediat et Cécile Bernard представлен галофильными и галоалкалофильными нитчатыми негетероцистными цианобактериями, распространенными в морских и внутриконтинентальных минерализованных водоемах различного гидрохимического состава (содовых, содово-соленых и соленых). Этот род был описан в 2018 г. на основании штаммов, выделенных из соленого щелочного озера Дзиани-Дзаха, расположенного на о-ве Майотта в Индийском океане (Cellamare et al., 2018). Типовой вид рода — Sodalinema komarekii Cellamare, Charlotte Duval, Touibi, Djediat et Cécile Bernard.

Несколько позднее полифазный анализ филогенетических, морфологических, ультраструктурных и экологических особенностей других представителей этого рода, известных из морских, содовых и содово-соленых местообитаний Евразии и Африки, привел к описанию еще трех видов (Samylina et al., 2021) с различными ареалами распространения: *S. orleanskyi* Samylina, Sinetova, Kupriyanova and Tourova (Танзания); *S. gerasimenkoae* Samylina, Sinetova, Kupriyanova and Tourova (Забайкалье, Россия); *S. stali* Samylina, Sinetova, Kupriyanova and Tourova (морские приливные отмели в Северном море).

Описание новых таксонов требует комплексного подхода, поэтому анализ Samylina et al. (2021) был ограничен относительно небольшим количеством представителей (18 штаммов), для которых были доступны культуры и/или нуклеотидные последовательности не только 16S pPHK, но и 16S-23S ITS участков. Подавляющее большинство известных культивируемых и некультивируемых штаммов, которые на основании частичной генетической или морфологической информации могут быть идентифицированы как представители рода Sodalinema, не были включены в анализ. Таким образом, представления о распространении этого рода являются неполными. Кроме того, вывод о приуроченности отдельных видов (а не географических популяций одного вида) к разным географическим регионам, а также вопрос о «географических дистанциях» между отдельными видами требуют дальнейшего изучения.

Целью данной работы стало получение более полной информации о географическом и экологическом распространении цианобактерий рода *Sodalinema*. В задачи работы входил поиск генетических последовательностей, относящихся к представителям этого рода, в базах данных NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/) и JGI (https://img.jgi.doe.gov/), анализ и систематизация информации об их географической и экологической приуроченности. Также в анализ были включены некоторые штаммы, отнесенные к роду *Sodalinema* исключительно по фенотипическим признакам (в том числе выделенные авторами).

В результате работы найдены 72 нуклеотидные последовательности, относящиеся к представителям рода Sodalinema: 64 фрагмента генов 16S рРНК и 8 полногеномных последовательностей (включая геномы, собранные из метагеномных данных). Кроме того, нами выделено и морфологически охарактеризовано 7 штаммов, для которых в настоящее время отсутствуют генетические данные. Представители рода Sodalinema выявлены более чем в 26 различных географических точках в 18 странах Африки, Евразии, Северной и Южной Америки.

Для двух морских и четырёх галоалкалофильных озерных штаммов *Sodalinema* с доступными полными геномами было попарно рассчитано среднее геномное сходство (average nucleotide identity, ANI). При интерпретации полученных результатов за границы внутривидовых и межвидовых различий принимали значения >95% и <83% соответственно (Jain et al., 2018). В результате сравнения два морских штамма *Sodalinema stali* (*Phormidium lacuna*) НЕ10ЈО, выделенный с побережья Северного моря, и *Sodalinema* sp. (*Phormidium willei*) BDU 130791,

выделенный с побережья Бенгальского залива, с высокой долей вероятности могут быть отнесены к одному виду (95.9% по ANI). Сравнение геномов представителей Sodalinema sp. из содовых озёр Кулундинской степи P-1104 (оз. Петуховское содовое) и G1-19-MAG15 (оз. Горчина 1) показало уровень сходства в 99.4% по ANI, что свидетельствует об их принадлежности к одному виду. Попарное сравнение геномов галоалкалофильных штаммов Sodalinema sp. P-1104, Sodalinema gerasimenkoae IPPAS B-353 (содово-соленое оз. Хилганта, Забайкалье), Sodalinema sp. (Phormidium yuhuli) AB48 (биореактор с содово-солеными условиями, Канада), показывает их принадлежность к одному роду, но уровень сходства в диапазоне 86.5-90% по ANI может быть интерпретирован двояко, и вопрос об их видовой принадлежности требует дальнейшего анализа с использованием генетических и фенотипических критериев. Уровень геномного сходства между морскими (HE10JO, BDU 130791), галофильным Sodalinema (Phormidium) sp. OSCR GFM(гиперсоленое озеро Хот, США) и галоалкалофильными озерными штаммами (P-1104, IPPAS B-353, G1-19-MAG15, AB48) составляет 83.0-84.6% по ANI, что подтверждает их межвидовые различия и согласуется с ранее опубликованными данными, полученными с использованием анализа последовательностей генов 16S pPHK, rpoB, gyrB и межгенного участка 16S-23S ITS (Samylina et al., 2021).

Таким образом, результаты нашего исследования расширили представления о географическом распространении рода *Sodalinema* не только в Евразии и Африке, но и в Северной и Южной Америке. Наши данные показывают, что цианобактерии рода *Sodalinema* могут быть перспективными объектами для изучения фундаментальных вопросов микробной эволюции и филогеографии.

Работа выполнена при поддержке проекта РНФ № 22-14-00038.

- Cellamare, M., Duval, C., Drelin, Y., Djediat, C., Touibi, N., Agogué, H., ... & Bernard, C. (2018). Characterization of phototrophic microorganisms and description of new cyanobacteria isolated from the saline–alkaline crater–lake Dziani Dzaha (Mayotte, Indian Ocean). FEMS Microbiology Ecology, 94(8), fiy108.
- Jain, C., Rodriguez-R, L. M., Phillippy, A. M., Konstantinidis, K. T., & Aluru, S. (2018). High throughput ANI analysis of 90K prokaryotic genomes reveals clear species boundaries. Nature communications, 9(1), 5114.
- Samylina, O. S., Sinetova, M. A., Kupriyanova, E. V., Starikov, A. Y., Sukhacheva, M. V., Dziuba, M. V. & Tourova, T. P. (2021). Ecology and biogeography of the 'marine *Geitlerinema*' cluster and a description of *Sodalinema orleanskyi* sp. nov., *Sodalinema gerasimenkoae* sp. nov., *Sodalinema stali* sp. nov. and *Baaleninema simplex* gen. et sp. nov. (Oscillatoriales, Cyanobacteria). FEMS Microbiology Ecology, 97(8), fiab104.

#### З.В. Кривова, Е.И. Мальцев, М.С. Куликовский

### ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА NOSTOC

Z.V. Krivova, E.I. Maltsev, M.S. Kulikovskiy

#### FATTY ACID COMPOSITION OF THE GENUS NOSTOC

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, kosiapeya@mail.ru

Nostoc Vaucher ex Bornet et Flahault — род нитчатых цианобактерий, представители обитать как в водных, так и в наземных условиях. представляют интерес, так как они способны переживать засушливые условия довольно продолжительное время (Dodds et al., 1995). Также они являются перспективными объектами для биотехнологий, так как исследования показали, что они запасают такие для человечества вещества как витамины, белки, различные ценные жирные кислоты (Temina et al., 2007). Показана эффективность применения биомассы *Nostoc* в медицинских целях при лечении подагры и некоторых форм рака (Pietra, 1990). Результаты множества клинических исследований доказали, что полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) требуются для нормального функционирования нервной системы человека (Jandacek, 2017; Liau et al., 2021), они предотвращают нейродегенеративные заболевания и психические расстройства, используются в качестве профилактики сердечно-сосудистых заболеваний и различных инфекций (Roach et al., 2020). В данной работе было изучено семь штаммов рода Nostoc, с целью определения их качественных и количественных профилей жирных кислот (ЖК).

Альгологически чистые культуры цианобактерий содержались в жидкой среде Z8 (Kotai, 1972) в колбах (250 мл) при 25°С и постоянном освещении 100 мкмоль фотонов м-2 с-1. Штаммы были проанализированы после достижения стационарной фазы роста. Таксономическое положение штаммов определялось с помощью анализа морфологии с использованием микроскопа Zeiss AxioScope A1 (Германия), оснащенного иммерсионным объективом (DIC), а также молекулярно-филогенетических исследований. Для получения профилей ЖК использовался метод экстрагирования метиловых эфиров жирных кислот (МЭЖК) с помощью гексана. Состав МЭЖК определяли с использованием газовой хроматографии/масс-спектрометрии на приборе Agilent 7890A GC (США) с 60-м капиллярной колонкой DB-23 с внутренним диаметром 0,25 мм.

В работе сравнивали семь почвенных штаммов рода *Nostoc*. Два штамма *Nostoc commune* Vaucher ex Bornet et Flahault (MZ–C3-51, MZ–C3-42) и пять штаммов *Nostoc punctiforme* Hariot (MZ–C3-83, MZ–C25, MZ–C3-18, MZ–C3-61, MZ–C3-43). Для всех исследуемых штаммов характерным оказалось наличие трех ЖК: мононенасыщенной пальмитиновой (21,97–25,45%; 16,95–40,26%), мононенасыщенной пальмитолеиновой (24,84–28,12%; 8,74–29,97%) и полиненасыщенной омега-3  $\alpha$ -линоленовой кислоты (36,44–42,7%; 8,65–47,86%). Также все штаммы кроме *N. commune* MZ–C3-42 и *N. punctiforme* MZ–C3-61 запасали значительные концентрации ненасыщенной омега-6 линолевой кислоты (13,27–35,15%). Большинство описанных штаммов накапливали мононенасыщенные омега-9 олеиновую (2,99–9,33%) и омега-7 цис-вакценовую (3,46–4,22%) жирные кислоты. Также у одного штамма *N. punctiforme* MZ–C25 было отмечен довольно высокий процент стеариновой кислоты (13,8%).

При сравнении состава ЖК описанных нами штаммов с литературными данными отмечается высокая корреляция результатов, полученных как по качественному составу профилей ЖК, так и в процентном соотношении. Два штамма N. commune (SAG 1453-3, SAG 1453-5) и шесть штаммов N. punctiforme (SAG 60.79, SAG 65.79, SAG 67.79, SAG 68.79, SAG 69.79, SAG 71.79) описанные в работе Lang et al. (2011) также накапливают насыщенную пальмитиновую кислоту (22,97–24,97%; 15,92–38,56%) мононенасыщенную пальмитолеиновую (23,84–29,19%; 6,04–28,97%) и полиненасыщенную омега-3  $\alpha$ -линоленовую кислоту, за исключением штамма N. punctiforme SAG 60.79 (37,68–37,96%; 4,03–51,79%). Что касается остальных ЖК, наблюдается аналогичная ситуация. У представителей рода отмечено содержание ненасыщенной омега-6 линоленовой кислоты, исключая один штамм N. commune SAG 1453-3 и один штамм N. punctiforme SAG 60.79 (12,37%; 8,46 — 36,41%). У одного штамма N. commune SAG 1453-3 и у четырех штаммов N. punctiforme SAG 67.79, SAG 68.79, SAG 69.79, SAG 71.79 отмечено наличие мононенасыщенных омега-9 олеиновой (4%; 2,37–8,88%) и омега-7 вакценовой кислот (5,22%; 2,72–4,46%).

Таким образом, можно предположить, что данный профиль ЖК является характерным для рода Nostoc. Запасаемые штаммами кислоты, безусловно, представляют интерес для биотехнологий. Насыщенная пальмитиновая и мононенасыщенная пальмитолеиновая кислоты активно используются в производстве косметической продукции (Bialek et al., 2016). Полиненасыщенная омега-3 с-линоленовая кислота является незаменимой для человека, а способность накапливать данное соединение позволяет рассматривать биомассу исследованных штаммов как ценное сырье при создании кормов для аквакультуры, для производства БАДов, в косметологии и медицине (Kuppusamy et al., 2017). Омега-6 линолевая кислота используется в химической и пищевой промышленных сферах (Reaney et al., 1999). Также БАДы, содержащие данную ЖК, помогают при лечении кожных заболеваний и используют в качестве добавок для детских смесей (Whelan, Fritsche, 2013). Мононенасыщенная омега-9 олеиновая кислота также широко используется в области химической промышленности и в сфере косметологии (Bialek et al., 2016). Также показано, что данная кислота может использоваться при лечении гастрита, язвы желудка и как следствие — профилактики рака желудка (Sales-Campos et al., 2013). Данные, полученные в результате проведенной работы, подтверждают, что исследованные штаммы являются перспективными для биотехнологии и указывают на необходимость в их дальнейшем изучении Nostoc.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации России (тема 122042700045-3).

- Bialek, A., Bialek, M., Jelinska, M. & Tokarz, A. (2016): Fatty acid profile of new promising unconventional plant oils for cosmetic use. *International journal of cosmetic science* 38(4) 382–388.
- Dodds, W.K., Gudder, D.A. & Mollenhauer, D. (1995): The ecology of *Nostoc. Journal of Phycology* 31(1): 2–18
- Jandacek, R. J. (2017, May): Linoleic acid: a nutritional quandary. In Healthcare 5 (2): 25.
- Kotai, J. (1972): *Instructions for Preparation of Modified Nutrient Solution Z8 for Algae.* Norwegian Institute for Water Research, Blindern, Oslo, 5 pp.
- Kuppusamy, P., Soundharrajan, I., Srigopalram, S., Yusoff, M.M., Maniam, G.P., Govindan, N. & Choi, K.C. (1995): Potential pharmaceutical and biomedical applications of Diatoms microalgae An overview. *Indian journal of geo marine sciences* 46: 663–667.
- Lang, I., Hodac, L., Friedl, T. & Feussner, I. (2011): Fatty acid profiles and their distribution patterns in microalgae: a comprehensive analysis of more than 2000 strains from the SAG culture collection. BMC Plant Biology 11: 1–16.
- Liau, M. C., Kim, J. H., & Fruehauf, J. P. (2021): Arachidonic acid and its metabolites as surveillance differentiation inducers to protect healthy people from becoming cancer patients. *Clin Pharmacol Toxicol Res* 4(1): 7-10.
- Pietra, F. (1990): A secret world. Natural products of marine life. Birkhäuser, Basel: 232–234.
- Reaney, M.J., Liu, Y.D. & Westcott, N.D. (1999): Commercial production of conjugated linoleic acid. *Advances in conjugated linoleic acid research* 1: 39–54.
- Roach, L. A., Russell, K. G., Lambert, K., Holt, J. L., & Meyer, B. J. (2020): Polyunsaturated fatty acid food frequency questionnaire validation in people with end stage renal disease on dialysis. —*Nutrition & Dietetics* 77(1): 131-138.
- Sales-Campos, H., Souza, P.R., Peghini, B.C., da Silva, J.S. & Cardoso, C.R. (2013): An overview of the modulatory effects of oleic acid in health and disease. *Mini reviews in medicinal chemistry* 13(2): 201–210.
- Temina, M., Rezankova, H., Rezanka, T. & Dembitsky, V.M. (2007): Diversity of the fatty acids of the *Nostoc* species and their statistical analysis. *Microbiological research* 162(4): 308–321.
- Whelan, J. & Fritsche, K. (2013): Linoleic acid. Advances in nutrition 4(3): 311-312.

И.Л. Кузикова<sup>1</sup>, Т.Б. Зайцева<sup>1</sup>, Е.Н. Чернова<sup>1</sup>, А.Л. Сазанова<sup>2</sup>, Н.Г. Медведева<sup>1</sup>

# АЛЬГИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ И ДЕСТРУКЦИЯ МИКРОЦИСТИНА-LR НОВЫМ ШТАММОМ PENICILLIUM SP. GF3, ВЫДЕЛЕННЫМ ИЗ ФИНСКОГО ЗАЛИВА (БАЛТИЙСКОЕ МОРЕ)

I.L. Kuzikova<sup>1</sup>, T.B. Zayceva<sup>1</sup>, E.N. Chernova<sup>1</sup>, A.L. Sazanova<sup>2</sup>, N.G. Medvedeva<sup>1</sup>

# ALGICIDAL ACTIVITY AND MICROCYSTIN-LR DESTRUCTION BY A NOVEL STRAIN PENICILLIUM SP. GF3 ISOLATED FROM THE GULF OF FINLAND (BALTIC SEA)

<sup>1</sup>ФГБУН "Санкт-Петербургский Федеральный исследовательский центр Российской академии наук" (СПб ФИЦ РАН), Санкт-Петербургский научно-исследовательский центр экологической безопасности Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия, ilkuzikova@ya.ru

<sup>2</sup>ФГБНУ "Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии", Санкт-Петербург, Пушкин-8, Россия, v.safronova@rambler.ru

В условиях изменения климата и эвтрофикации водоемов массовое развитие цианобактерий в природных водоемах представляет глобальную экологическую проблему (Liang et al., 2022). Возрастающая интенсивность «цветения» водоемов практически во всех странах мира вызывает опасения в связи с тем, что многие цианобактерии — возбудители «цветения», образуют сильнодействующие токсины (Buratti et al., 2017). Наиболее распространенными изученными цианотоксинами являются микроцистины  $(MC_s)$ гепатотоксичностью, негативно влияющие на нервную (Wang et al., 2019), пищеварительную (Cao et al., 2019), дыхательную системы (Meng et al., 2020) и др. Для решения проблемы с токсичными «цветениями» разработаны и испытаны многие физические, химические, биологические методы и другие технологии. Биологические методы считаются наиболее экономичным и экологически способом борьбы с массовым развитием цианобактерий и разложением их цианотоксинов (He et al., 2022). Однако большинство биологических исследований сфокусировано, главным образом, на изучении бактерий, обладающих альгицидными свойствами и способностью деструктировать MC<sub>2</sub> (Massey and Yang, 2020). Потенциал грибов в процессах контроля массового развития цианобактерий и биодеструкции микроцистинов в значительной степени мало изучен.

Цель настоящего исследования заключалась в выделении и идентификации нового штамма аскомицета с альгицидными свойствами и способностью деструктировать микроцистин-LR, изучении спектра его альгицидной активности, процесса и механизмов трансформации MC-LR выделенным грибом, а также оксидативного стресс-отклика в ответ на действие MC-LR.

Штамм Penicillium sp. GF3 был выделен из пробы воды, отобранной в Финском заливе вблизи острова Гогланд во время активной вегетации цианобактерий. Идентификацию штамма по культурально-морфологическим признакам и данным филогенетического анализа на основе генов ITS. В пробе воды были детектированы 5 структурных вариантов микроцистинов (0,44 мкг/л), причем наибольший вклад вносил наиболее токсичный представитель MC-LR (0,31мкг/л). Результаты по определению альгицидной активности штамма GF3 показали, что культуральная жидкость гриба и фильтрат культуральной жидкости обладают альгицидным эффектом как в отношении цианобактерий, так и в отношении зеленых водорослей. Наибольшая чувствительность к альгицидному действию штамма GF3 отмечена у цианобактерий. Через 24 часа содержание хлорофилла а в среде при добавлении культуральной жидкости или нативного раствора микромицета снижалось на 98-100% для всех тестируемых цианобактерий. Альгицидный эффект выделенного штамма на зеленые водоросли был ниже и не превышал 50%. Следует отметить, что отмытый мицелий гриба не обладал альгицидным действием в отношении исследуемых тест-культур. Исходя из полученных результатов механизм действия штамма GF3 на клетки цианобактерий и водорослей можно отнести к непрямому воздействию путем экскреции в окружающую среду метаболитов с альгицидной и/или литической активностью. Процесс убыли микроцистина — LR из среды изучали при концентрации сырца MC-LR 0.1 и 0.45 мкг/мл. Установлено, что удаление MC-LR из растворов происходит за счет биологических процессов, так как в абиотическом контроле концентрация MC-LR не изменялась в течение всего Методом ВЭЖХ-масс-спектрометрии процесса культивирования. показано, 72 часа культивирования штамма Penicillium sp. GF3 содержание сырца MC-LR в концентрации 0.1 мкг/мл в нативном растворе статистически значимо (p < 0.05) снизилось на 34.1%, а в концентрации 0.45 мкг/мл на 26.7%. При последующем культивировании штамма дальнейшей убыли токсина при обеих концентрациях не наблюдалось. Следует отметить, что инактивированные клетки гриба не сорбировали MC-LR. На основании полученных данных, можно сделать вывод о том, что удаление MC-LR из раствора происходит за счет его биодеструкции штаммом GF3, а не сорбции. MC-LR в исследуемых концентрациях до 0.45 мкг/мл не оказывает влияния на рост и продукцию биомассы штамма-деструктора. Для объяснения устойчивости штамма GF3 к MC-LR в настоящей работе проведены исследования по изучению реакции антиоксидантной системы защиты микромицета на воздействие MC-LR. Известно, что MC могут индуцировать окислительный стресс в клетках различных живых организмов — животных, рыб, растений, цианобактерий, дрожжей (Valério et al., 2014; Greer et al., 2017; Oliveira and Silva, 2021). Показано, что высокая стресс-устойчивость штамма GF3 к токсичному MC-LR обеспечивается активацией почти в 1.5 раза каталазной активности и изменением в содержании восстановленного глутатиона, способного коньюгировать с MC-LR. В процессе убыли MC-LR в культуральной жидкости грибадеструктора идентифицированы продукты трансформации MC-LR — коньюгат микроцистина с глутатионом MC-LR-Glu и линеализированная форма MC-LR — АДДа-Glu-Mdha-Ala-Leu-Masp-Arg-OH. Линеализированная форма MC-LR у грибов-деструкторов MC-LR выявлена впервые. С использованием метода биотестирования (Daphnia magna) установлено, что в процессе биодеструкции MC-LR штаммом GF3 образуются менее токсичные продукты его трансформации. Токсичность фильтратов культуральной жидкости гриба снижается по сравнению с абиотическим контролем в 5 раз, что коррелирует с убылью токсина в нативном растворе.

Высокая альгицидная активность и способность деструктировать MC-LR с образованием малотоксичных продуктов трансформации позволяет рассматривать штамм *Penicillium sp.* GF3 в качестве кандидата для регулирования процессов массового развития цианобактерий и детоксикации водных объектов, загрязненных токсичными метаболитами цианобактерий.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 23-24-00140.

- Liang, Y.,Yin, F., Xie, D., Liu, L., Zhang, Y., Ashraf, T. (2022): Inversion and monitoring of the TP concentration in Taihu Lake using the landsat–8 and sentinel–2 images. *Remote Sens. 14*: 6284.
- Buratti, F.M., Manganelli, M., Vichi, S., Stefanelli, M., Scardala, S., Testai, E., Funari, E. (2017): Cyanotoxins: Producing organisms, occurrence, toxicity, mechanism of action and human health toxicological risk evaluation. *Arch. Toxicol.* 91: 1049—1130.
- Wang, J., Chen, Y., Zhang, C., Xiang, Z., Ding, J., Han, X. (2019): Learning and memory deficits and alzheimer's disease-like changes in mice after chronic exposure to microcystin-LR. *J. Hazard. Mater.* 373: 504—518.
- Cao, L., Huang, F., Massey, I.Y., Wen, C., Zheng, S., Xu, S., Yang, F. (2019): Effects of microcystin-LR on the microstructure and inflammation-related factors of jejunum in mice. —*Toxins* 11: 482.
- Meng, X., Zhang, L., Hou, J., et al. (2020): The mechanisms in the altered ontogenetic development and lung-related pathology in microcystin-leucine arginine (MC-LR)-paternal-exposed offspring mice. *Sci. Total Environ.* 736: 139678.
- He, Q., Wang, W., Xu, Q, Liu, Z., Teng, J., Yan, H., Liu, X. (2022): Microcystins in water: detection, microbial degradation strategies, and mechanisms. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 19: 13175.
- Massey, I.Y., Yang, F. A. (2020): Mini review on microcystins and bacterial degradation. Toxins 12: 268.
- Valério, E., Vilares, A., Campos, A., Pereira, P., Vasconcelos, V. (2014): Effects of microcystin-LR on *Saccharomyces cerevisiae* growth, oxidative stress and apoptosis. *Toxicon* 90: 191—198.
- Greer, B., Maul, R., Campbell, K., & Elliott, C. T. (2017): Detection of freshwater cyanotoxins and measurement of masked microcystins in tilapia from Southeast Asian aquaculture farms. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 409(16): 4057—4069.
- Oliveira, I. B. de; Silva, H. A. (2021): Cellular oxidative stress stimulated by microcystin: review. *Research, Society and Development. [S. l.].* 10(11): e422101119765.

#### А.В. Леусенко, К.С. Миронов, Д.А. Лось

### РОЛЬ PAS-ДОМЕНА СЕНСОРНОЙ ГИСТИДИНКИНАЗЫ HIK33 В РЕГУЛЯЦИИ СТРЕССОВЫХ ОТВЕТОВ У SYNECHOCYSTIS SP. PCC 6803 GT-L

A.V. Leusenko, K.S. Mironov, D.A. Los

### THE ROLE OF THE PAS-DOMAIN OF THE SENSORY HISTIDINE KINASE HIK33 IN THE REGULATION OF STRESS RESPONSES IN SYNECHOCYSTIS SP. PCC 6803 GT-L

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия, ankenn-7@yandex.ru

PAS (Per-ARNT-Sim) домен — это широко распространенная функциональная часть структуры белков, встречающихся у представителей всех трех царств жизни — архей, прокариот и эукариот. Биологические функции белков, в которых идентифицирован PAS домен, весьма разнообразны. К этой группе принадлежат гистидин — и серин/треонининовые протеинкиназы, хемо — и фоторецепторы, фосфодиэстеразы, ионные каналы, белки, управляющие циркадными ритмами, а также различные регуляторы клеточных ответов (Taylor, Zhulin, 1999). Непосредственно сам РАЅ-домен отвечает за сенсорную и сигнальную функции этих белков; и, одновременно, принимает участие в формировании их третичной структуры (Stuffle et al., 2021). Hik33 — сенсорная гистидинкиназа, которая вместе с соответствующим регулятором ответа (Rre), составляет двухкомпонентную сигнальную систему. Hik33 принимает участие в регуляции экспрессии большого количества генов в ответ на холодовой, солевой и гиперосмотический стрессы (Los et al., 2010). Структура Hik33 включает три трансмембранных (ТМ1, ТМ2 и ТМ3), а также НАМР, PAS — и киназный домены (согласно базе данных Uniprot). Ранее в экспериментах было показано, что при воздействии холодового стресса на клетки Synechocystis на свету индуцируется транскрипция Hik33-зависимых генов hliB, ndhD2 и desB, в то время как в темноте индукции не происходит. Это указывает на явный светозависимый характер передачи сигнала холодового стресса через Hik33 (Mironov et al., 2012). Дальнейшие исследования показали, что Hik33 оказывает наибольшее влияние на уровень экспрессии hliB, ndhD2 и desB при воздействии красного света (700 нм) (Mironov et al., 2014). Согласно литературным данным наиболее вероятным кандидатом на роль светового сенсора является PAS домен. В то же время Diego de Mendosa с коллегами в своих работах показал, что гистидинкиназа DesK (температурный сенсор у Bacillus subtilis) распознает изменение толщины мембраны при снижении температуры окружающей среды с помощью ТМ доменов (Cybulski et al., 2010). В настоящей работе для изучения функциональной роли отдельных доменов Hik33 в передаче сигнала были получены независимые мутанты Synechocystis, несущие эту гистидинкиназу с частично (Δ2/3(ТМ1-ТМ3)) и целиком (Δ(ТМ1-ТМ3)) удаленными трансмембранными доменами, а также мутант с делецией по PAS-домену (ΔPAS).

С помощью ОТ-ПЦР было показано изменение уровня экспрессии ряда генов, зависимых и независимых от регуляции Hik33 (Los et al., 2010), в мутантах с модифицированной гистидинкиназой в условиях низкотемпературного стресса на свету и в темноте. Результаты эксперимента можно разделить на три группы: Hik33 — и светозависимая экспрессия генов; независимая от Hik33, но зависимая от света экспрессия генов; независимая ни от Hik33, ни от света экспрессия генов. Показано, что удаление всех трех трансмембранных доменов или PAS домена приводит к критическому снижению количества мРНК у Hik33-зависимых генов как на свету, так и в темноте. Однако в то же время в мутантном штамме с гибридным трансмембранным доменом, состоящим из N-концевой части ТМ1 и C-концевой части ТМ3 (или  $\Delta 2/3$ (ТМ1-ТМ3)), индукция экспрессии Hik33-зависимых генов происходила так же, как в штамме дикого типа.

Во второй группе генов в темноте не наблюдалось индукции транскрипции мРНК. Одновременно с этим модификации в структуре гистидинкиназы Hik33 в основном не оказывали значительного влияния на уровни экспрессии. Примечателен тот факт, что ген *crhR*, ранее считавшийся независимым от регуляции Hik33, по всей видимости, все же находится под частичным или опосредованным контролем данной гистидинкиназы.

В случае представителя третьей группы, Hik33-независимого гена *rbpA1*, ни модификации в гистидинкиназе, ни отсутствие света не приводили к изменениям в уровне транскрипции.

Полученные данные говорят о том, что и трансмембранные домены и PAS домен являются критически важными модулями для функциональной активности Hik33. Результаты, полученные для мутантных штаммов *Synechocystis* с Hik33 с полностью удаленными TM доменами или единственным гибридным TM доменом, аналогичны результатам группы Diego de Mendosa для DesK в *Bacillus subtilis*, что согласуется с гипотезой универсального механизма распознавания низкотемпературного стресса у бактерий.

Изучение механизмов получения и передачи сигналов гистидинкиназой Hik33 в настоящее время продолжается.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 122042700043-9), а также при поддержке гранта РНФ № 21-74-30003.

- Cybulski, L.E.; Martín, M.; Mansilla, M.C.; Fernández, A.; de Mendoza, D. (2010): Membrane thickness cue for cold sensing in a bacterium.—Current Biology 20: 1539–1544.
- Los, D.A.; Zorina, A.; Sinetova M.; Kryazhov X.; Mironov K; Zinchenko V.V. (2010): Stress Sensors and Signal Transducers in Cyanobacteria.—Sensors 10: 2386–2415.
- Mironov, K.S.; Sidorov, R.A.; Trofimova, M.S.; Bedbenov, V.S.; Tsydendambaev, V.D.; Allakhverdiev, S.I.; Los, D.A. (2012): Light-dependent cold-induced fatty acid unsaturation, changes in membrane fluidity, and alterations in gene expression in *Synechocystis*.—Biochimica et Biophysica Acta 1817: 1352–1359.
- Mironov, K.S.; Sidorov, R.A.; Kreslavski, V.D.; Bedbenov, V.S.; Tsydendambaev, V.D.; Los, D.A. (2014): Coldinduced gene expression and x3 fatty acid unsaturation is controlled by red light in *Synechocystis*.— Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology 137: 84–88.
- Stuffle, E.S.; Johnson, M.S.; Watts, K.J. (2021): PAS domains in bacterial signal transduction.—Current Opinion in Microbiology 61: 8–15.
- Taylor, B.L., Zhulin, I. (1999): PAS Domains: Internal Sensors of Oxygen, Redox Potential, and Light.— Microbiology and Molecular Biology Reviews 63: 479–506.

П.А. Леусенко, К.С. Миронов, Д.А. Габриелян, М.А. Синетова, А.Ю. Стариков, Р.А. Волошин, Д.А. Лось

# SYNECHOCOCCUS ELONGATUS PCC7942 С СИНТЕТИЧЕСКИМИ ОПЕРОНАМИ ДЛЯ ПРОМЫШЛЕННОГО ПОЛУЧЕНИЯ ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ

P.A. Leusenko, K.S. Mironov, D.A. Gabrielyan, D.A. Sinetova, A.Y. Starikov, R.A. Voloshin, D.A. Los

### SYNECHOCOCCUS ELONGATUS PCC7942 WITH SYNTHETIC OPERONS FOR THE INDUSTRIAL PRODUCTION OF POLYUNSATURATED FATTY ACIDS

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН (Москва, Россия), gurfarm@yandex.ru

Десатуразы жирных кислот (ЖК) — ферменты, катализирующие превращение одинарной связи между атомами углерода в ацильных цепях в двойные связи в конкретном положении, и тем

самым увеличивающие ненасыщенность ЖК (Los, Murata, 1998). От степени ненасыщенности ЖК зависит текучесть цитоплазматической мембраны, которая во многом определяет устойчивость клеток к стрессовым факторам. Исследования в этой области имеют био — и агротехнологическое значение, поскольку позволяют получать растения, устойчивые к неблагоприятным факторам окружающей среды (Maali-Amiri et al., 2010).

Для изучения влияния ЖК-профиля на устойчивость к внешним стрессовым факторам мы создали новый интеграционный вектор pLPA7 (на основе pTrc99A) для трансформации цианобактерии *Synechococcus elongatus* PCC 7942. Внесенные изменения генетической конструкции дали ряд преимуществ по сравнению с традиционно применяемыми интеграционными векторами, такими как pAM1303 (Andersson et al., 2000):

- 1. Возможность проводить сборку необходимой конструкции на плазмиде в штамме *E. coli* с последующей трансформацией в целевой штамм, минуя этап переклонирования собранного оперона в интеграционный вектор.
- 2. Возможность легкой замены участков интеграции в хромосому. Это открывает широкие возможности для смены как мест локации на хромосоме, так и смены целевого штамма.
- 3. Новый полилинкер с уникальными сайтами рестрикции (*Spe* I-*Hpa* I-*Mfe* I-*Eco* 53kl-*Sac* I-*Sac* II-*Bam*H I-*Bsu* 36I).
- 4. Система Bio-Bricks, основанная на использовании изокаудомеров эндонуклеаз рестрикции, упрощает последовательную сборку сложных генетических конструкций.

В данной работе для создания синтетических оперонов использовались гены десатураз ЖК  $desA~(\Delta^{12}-),~desB~(w^3$  — или  $\Delta^{15}-)$  и  $desD~(\Delta^{6}$ -десатураза) из цианобактерии Synechocystis~ sp. PCC 6803 в следующих комбинациях: desA-desB,~desA-desD,~desA-desB и desA отдельно.

Полученные векторы использовались для интеграции синтетических оперонов в хромосому цианобактерии S. elongatus PCC 7942, у которой имеется только одна  $\Delta^9$ -десатураза (desC). У всех мутантов наличие мРНК соответствующих генов десатураз подтверждено с помощью ОТ-ПЦР, соответствующие профили ЖК были подтверждены методом газовой хроматографии.

Для оценки возможности масштабирования процессов культивирования полученных мутантов была проведена серия экспериментов в разработанных в ИФР РАН плоскостных фотобиореакторах (ФБР) (Gabrielyan et al., 2022). Культивирование проводилось одновременно в трех ФБР рабочим объемом 5 литров каждый. Параллельно с запуском реакторов проводилось культивирование исходной культуры в сосудах (три сосуда по 250 мл), как это было сделано во всех предыдущих экспериментах. Задачей экспериментов являлось оценка влияния масштабирования на ростовые характеристики мутантов, состав ЖК, фотосинтетическую активность и др. Условия культивирования во всех случаях были одинаковы по температуре, составу питательной среды, уровню освещения и концентрации  $CO_2$  в газовоздушной смеси. Представленные в работе результаты дают основания полагать, что цианобактерии с синтетическими оперонами, могут стать платформой для создания продуцентов полиненасыщенных ЖК и иных полезных веществ.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 122042700043-9), а также при поддержке гранта РНФ № 21-74-30003.

- Andersson C.R., Tsinoremas N.F., Shelton J., Lebedeva N.V., Yarrow J., Min H., Golden S.S. (2000): Application of bioluminescence to the study of circadian rhythms in cyanobacteria—*Methods Enzymol.* 305: 527–542
- Gabrielyan D.A., Gabel, B.V., Sinetova M.A., Gabrielian A.K., Markelova A.G., Shcherbakova N.V., Los D.A. (2022): Optimization of CO<sub>2</sub> Supply for the Intensive Cultivation of Chlorella sorokiniana IPPAS C-1 in the Laboratory and Pilot-Scale Flat-Panel Photobioreactors—*Life* 12: 1469.
- Los D.A, Murata N. (1998) Structure and expression of fatty acid desaturases—*Biochim. Biophys. Acta* 1394: 3-15.
- Maali-Amiri R., Yur'eva N.O., Shimshilashvili K.R., Goldenkova-Pavlova I.V., Pchelkin V.P., Kuznetsova E.V., Tsydendambaev V.D., Trunova T.I., Los D.A., Salehi Jouzani G.R., Nosov A.M. (2010): Expression of acyl-lipid Δ12-desaturase gene in prokaryotic and eukaryotic cells and its effect on cold stress tolerance—*J. Integr. Plant Biol.* 52: 289-297.

### Е.И. Мальцев, С.Ю. Мальцева, М.С. Куликовский

### НОВЫЙ ВИД *DESMONOSTOC* ИЗ ПОЧВ БОЛЬШОГО КАВКАЗА

E.I. Maltsev, S.Y. Maltseva, M.S. Kulikovskiy

#### A NEW SPECIES OF DESMONOSTOC FROM THE SOILS OF THE GREATER CAUCASUS

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, ye.maltsev@gmail.com

Одними из наиболее сложных в плане таксономии и в тоже время широко распространёнными цианобактериями являются представители с *Nostoc*-подобной морфологией. Данные цианобактерии играют важную роль в водных и почвенных экосистемах не только благодаря фотосинтезу и накоплению органического вещества, но и способности осуществлять фиксацию атмосферного азота. На сегодняшний день из рода *Nostoc* Vaucher ex Bornet et Flahault на основании комбинированных молекулярных, морфологических и экологических критериев выделено несколько новых родов, таких как *Desmonostoc* Hrouzek et S.Ventura (Hrouzek et al., 2013), *Mojavia* K. Reháková et J.R. Johansen (Rehakova et al., 2007) и др. Представители рода *Desmonostoc*, в отличии от *Nostoc* sensu stricto, характеризуются отсутствием терминальных гетероцист и более крепкими трихомами.

Во время изучения разнообразия цианобактерий в почвах Большого Кавказа (Россия Ставропольский край, Предгорный район) из верхнего почвенного горизонта на высоте 2100 м над уровнем моря был выделен штамм MZ-C154. Анализ морфологических признаков штамма MZ-C154 показал его сходство с представителями рода Desmonostoc: рыхлая агломерация нитей, бочкообразные вегетативные клетки и отсутствие плотных колоний. Отличительными морфологическими особенностями нового штамма были меньшие размеры макроскопических колоний, специфические размеры вегетативных клеток (мельче, чем у Desmonostoc geniculatum Miscoe, Pietrasiak et J.R. Johansen, Desmonostoc lechangense Pecundo et Tao Chen, Desmonostoc salinum L.V. Alvarenga et al. и крупнее, чем у Desmonostoc persicum Kabirnataj et al.), меньший размер гетероцист, наличие отчетливого слизистого чехла по сравнению с Desmonostoc danxiaense F. Cai et R. Li и Desmonostoc salinum.

Топология построенного филогенетического дерева 16S pPHK соответствовала полученным ранее филограммам (de Alvarenga et al., 2018; Kabirnataj et al., 2020; Pecundo et al., 2021) — в дереве отчетливо сформировалась клада Desmonostoc, в которую вошли все виды Desmonostoc (кроме Desmonostoc vinosum Miscoe et J.R.Johansen) и ряд штаммов Desmonostoc sp. Филогенетический анализ методами максимального правдоподобия и байесовского подхода показал, что штамм MZ-C154 занимает промежуточное эволюционное положение между Desmonostoc sp. PCC 8107 и Nostoc linckia var. arvense IAM M-30 + Nostoc linckia IAM M-251.

Сравнительный анализ предсказанных вторичных структур спиралей D1-D1', Box-B, и V3 ITS для штамма MZ-C154 и остальных видов *Desmonostoc* выявил несколько различий. Было отмечено, что вторичная структура D1-D1' у штамма MZ-C154 наиболее сходна с Desmonostoc salinum и Desmonostoc sp. 111 CR4 BG11N. Как показали несколько предыдущих исследований, основное различие между видами Desmonostoc заключается в вариабельных участках на вершинах спиралей (Cai et al., 2018; Pecundo et al., 2021). Последовательность (AGCG) в терминальной части петли D1-D1' у штамма MZ-C154 отличала его от остальных видов Desmonostoc. Кроме того обнаружено, что спираль V3 у штамма MZ-C154 сильно отличается от спиралей V3 других штаммов *Desmonostoc*. Наличие пяти двусторонних выпуклостей в спирали V3 нового штамма отличало его от *Desmonostoc* aggregatum Pecundo et Tao Chen, Desmonostoc danxiaense, Desmonostoc lechangense, Desmonostoc salinum и штаммов CCIBT 3489, 111 CR4 BG11N. Размер билатеральной выпуклости у основания спирали V3 штамма MZ-C154 был меньшим по сравнению с аналогичными неспаренными участками у штаммов Desmonostoc geniculatum. Спирали V3 штаммов MZ-C154 и Desmonostoc sp. 81 NMI ANAB отличались по длине. В виду перечисленных специфических морфологических и молекулярно-генетических характеристик и в соответствии с Международным кодексом номенклатуры водорослей, грибов и растений на основании штамма МZ-С154 и природного материала был описан новый вид цианобактерий Desmonostoc caucasicum S. Maltseva, Kulikovskiy et Maltsev (Maltseva et al., 2022).

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 19-04-00326 A) и в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации России (тема 122042700045-3).

- Cai, F., Yang, Y., Wen, Q. & Li, R. (2018): *Desmonostoc danxiaense* sp. nov. (Nostocales, Cyanobacteria) from Danxia mountain in China based on polyphasic approach. *Phytotaxa* 367: 233–244.
- de Alvarenga, L.V., Vaz, M.G.M.V., Genuário, D.B., Esteves-Ferreira, A.A., Almeida, A.V.M., de Castro, N.V., Lizieri, C., Souza, J.J.L.L., Schaefer, C.E.G.R., Nunes-Nesi, A. & Araújo, W.L. (2018): Extending the ecological distribution of *Desmonostoc* genus: proposal of *Desmonostoc salinum* sp. nov., a novel Cyanobacteria from a saline-alkaline lake. *International journal of systematic and evolutionary microbiology* 68: 2770–2782.
- Hrouzek, P., Lukešová, A., Mareš, J. & Ventura, S. (2013): Description of the cyanobacterial genus *Desmonostoc* gen. nov. including *D. muscorum* comb. nov. as a distinct, phylogenetically coherent taxon related to the genus *Nostoc*. *Fottea, Olomouc* 13: 201–213.
- Kabirnataj, S., Nematzadeh, G.A., Talebi, A.F., Saraf, A., Suradkar, A., Tabatabaei, M. & Singh, P. (2020): Description of novel species of *Aliinostoc*, *Desikacharya* and *Desmonostoc* using a polyphasic approach. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 70: 3413–3426.
- Maltseva, S., Bachura, Y., Erst, T., Kulikovskiy, M. & Maltsev, Y. (2022): Description of *Desmonostoc caucasicum* sp. nov. (Cyanobacteria) using an integrative taxonomic approach. *Phycologia* 61(5): 514–527.
- Pecundo, M.H., Cai, F., Chang, A.C.G., Ren, H., Li, N., Li, R. & Chen, T. (2021): Polyphasic approach identifies two new species of *Desmonostoc* (Nostocales, Cyanobacteria) in the coralloid roots of *Cycas fairylakea* (Cycadales). *Phycologia* 60: 653–668.
- Reháková, K., Johansen, J.R., Casamatta, D.A., Xuesong, L., & Vincent, J. (2007): Morphological and molecular characterization of selected desert soil cyanobacteria: three species new to science including *Mojavia pulchra* gen. et sp. nov. *Phycologia* 46: 481–502.

А.С. Мельник<sup>1</sup>, О.Г. Дмитриева<sup>1,2</sup>

# ПРОСТРАНСТВЕННОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЦИАНОБАКТЕРИЙ В ЮГО-ВОСТОЧНОЙ БАЛТИКЕ В ЛЕТНИЙ ПЕРИОД 2020Г.

A.S. Melnik<sup>1</sup>, O.G. Dmitrieva <sup>1.2</sup>

### SPATIAL DISTRIBUTION OF CYANOBACTERIA IN THE SOUTH-EASTERN BALTIC IN SUMMER 2020

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт океанологии им. П.П. Ширшова Российской академии наук, Москва, Россия

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии» ФГБНУ "ВНИРО" Атлантический филиал ФГБНУ "ВНИРО" ("АтлантНИРО"), Калининград, Россия anastassizaHabar@mail.ru

Балтийское море – крупнейший в мире солоновато-водный водоем, характеризующийся частыми, обширными по площади, летними цветениями, которые, развиваясь ежегодно, охватывают значительные части морского пространства.

Материал собран 29.06.2020 – 15.07.2020 г, в рамках 55 рейса НИС «Академик Йоффе» в пределах исключительной экономической зоны (ИЭЗ) России в Юго-Восточной части Балтийского моря. Пробы отбирали в поверхностном горизонте (0-1м), обрабатывали по общепринятым методикам (Радченко и др., 2010). Всего обработано и проанализировано 35 проб.

Фитопланктон был представлен 58 таксонами из 10 систематических групп: цианобактерии (Cyanophyta) – 17 таксонов, криптофитовые (Cryptophyta) – 3, динофитовые (Dinophyta) – 11, диатомовые (Bacilariophyta) – 9, зеленые (Chlorophyta) – 10, эвгленовые (Euglenophyta) – 4, гаптофитовые (Haptophyta), золотистые (Chrysophyta), церкозои (Cercozoa), флагеляты (Flagelates) – по одному таксону.

Юго – Восточная Балтика – территория Российской ИЭЗ, характеризовалась высокими температурными характеристиками поверхности воды ( $22 - 23^{\circ}$ C) и низким уровнем прозрачности – 3-4,5 м, а также снижением интенсивности ветрового перемешивания. В поверхностном горизонте отмечались видимые скопления фитопланктона.

В мелководной прибрежной зоне Северного побережья Самбийского полуострова, а также вдоль тела Куршской косы до границы с Литвой (на глубинах от 11 до 20 м), численность и биомасса фитопланктона варьировала от 21,4 до 74,8 млн. кл/л и от 0,7 до 0,9 мг/л.

Доминировали преимущественно нитчатые и мелкоклеточные цианобактерии, среди которых основной вклад вносил типичный доминант летних цветений *Aph. flosaquae* – биомасса для данного вида составила около 0,3 мг/л вдоль всего побережья. Исключение составил м. Таран, где его биомасса составила 0,2 мг/л. Наряду с *Aph. flosaquae* в доминантный комплекс вошла другая нитчатая цианобактерия *Nodularia spumigena*, биомасса которой уменьшалась в направлении от м. Таран к границе с Литовской ИЭЗ – от 0,3 мг /л в районе м. Таран и до 0,01 мг/л в р-не п. Морское. По численности в доминантный комплекс вошла *Aphanothece paralleliformis*, численность которой была максимальна в р-не м. Таран 45,7 млн кл/л и далее по побережью (в направлении границы с Литовской ИЭЗ), она снижалась, и в р-не п. Морское составила 2,2 млн кл/л. В р-не м. Таран по биомассе *Aphanothece paralleliformis* вегетировала на уровне субдоминанта – 0,05 мг/л.

В относительно глубоководной зоне Российской ИЭЗ ЮВБ (на глубинах от 21 до 44 м), с увеличением удаленности от берега, на границе Литовской ИЭЗ, в поверхностном горизонте (0-1 м), было отмечено увеличение биомассы нитчатой цианобактерии *Nodularia spumigena* от 0,01 до 0,1 мг/л, мелкоклеточной цианобактерии *Aphanothece paralleliformis* 0,002 до 0,4 мг/л, для нитчатой *Aph. flosaquae* биомасса с удалением от берега менялась незначительно и составляла в среднем 0,3 мг/л.

В середине лета 2020 г в поверхностном горизонте (0-1 м) в Юго – Восточной Балтике (ИЭЗ России) структура фитопланктона была представлена различными формами микроводорослей. Основу доминантного комплекса составляли *Aphanizomenon flosaquae* и *N. spumigena*. Биомасса *Aph. flosaquae* почти не менялась в мелководной прибрежной зоне (на глубинах от 11 до 20 м) и в относительно глубоководной зоне (на глубинах от 21 до 44 м) и в среднем составила 0,3 мг/л. Для *N. spumigena* отмечена тенденция уменьшения биомассы в северо-восточном направлении и увеличение численности и биомассы по мере удаления от берега. Помимо нитчатых цианобактерий, массовое развитие получили мелкоклеточные формы. Среди которых хотелось бы отметить *Aphanothece paralleliformis*, биомасса которой также уменьшалась в северо-восточном направлении, а численность и биомасса по мере удаления от берега увеличивалась.

В середине лета 2020 г. в российском секторе ЮВБ, высокие температурные характеристики поверхности воды в сочетании со снижением интенсивности ветрового перемешивания, привели к формированию благоприятных условий, для вегетации цианобактерий и формирования их скоплений в поверхностном слое в виде полос и пятен цветения. Биомасса, на отдельных участках достигала, 0,9 мг/л, при этом в составе сообществ доминировали преимущественно *Aphanizomenon flosaquae*, *N. spumigena*, *Aphanothece paralleliformis*.

Исследование выполнено в рамках госзадания № 0128-2021-0012.

Радченко И.Г., Капков В.И., Федоров В.Д. Практическое руководство по сбору и анализу проб морского фитопланктона: Учебно-методическое пособие для студентов биологических специальностей университетов. — М.: Мордвинцев. — 2010. — 60 с.

К.С. Миронов, М.А. Синетова, Д.А. Лось

### СЕКВЕНИРОВАНИЕ ГЕНОМОВ ЦИАНОБАКТЕРИЙ КОЛЛЕКЦИИ ІРРАЅ

K.S. Mironov K.S., M.A. Sinetova, D.A. Los

#### WHOLE GENOME SEQUENCING OF IPPAS CULTURE COLLECTION CYANOBACTERIA

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, ksmironov@ifr.moscow

Современные методы высокопроизводительного секвенирования позволяют сравнительно легко получать информацию о целых геномах различных организмов. Особенно ценными представляются данные, которые «полны», т.е. геном не только хорошо прочитан, но и есть подтверждения «полноты» полученных данных. При этом «полногеномное» секвенирование прокариот является технически простой задачей, поскольку топологически их молекулы ДНК, хромосомы и плазмиды, — кольцевые. Между тем трудности заключаются в получении аксеничных культур, подборе среды и условий культивирования. Кроме того, не из всех культивируемых микроорганизмов данной группы удается получить высококачественный препарат геномной ДНК, поскольку полисахариды, активно выделяемые этими организмами во внешнюю среду,

часто сопутствуют выделяемой ДНК и могут ингибировать основные ферменты, используемые для приготовления библиотек ДНК, необходимых для секвенирования.

Современные методы высокопроизводительного секвенирования включают различные технологии, принципиально разделяемые на секвенирование II-го, в ходе которого получают относительно короткие прочтения, 100-600 п.н. с низким количеством ошибок, а также III поколений, которое позволяет читать достаточно длинные участки ДНК (2,3 млн п.н. документально подтвержденный рекорд, Payne *et al.*; 4,2 млн п.н. — согласно сайту nanoporetech.com, ссылающемуся на заявления в Twitter), сопоставимые по длине с размерами прокариотических геномов. При этом наиболее качественные «сборки» геномов получаются при комбинировании этих двух технологий.

Нами было проведено секвенирование нескольких штаммов цианоабактерий из коллекции IPPAS Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева с использованием комбинаций методов Illumina, полупроводникового секвенирования, а также Oxford Nanopore. В настоящее время «закольцованы» геномы и плазмидные ДНК штаммов IPPAS B-1200, IPPAS B-1201, IPPAS B-1204, IPPAS B-1220, проведен их сравнительный анализ с геномами родственных цианобактерий.

Payne, A., Holmes, N., Rakyan, V. & Loose, M. BulkVis: a graphical viewer for Oxford nanopore bulk FAST5 files. *Bioinformatics* (2018) doi:10.1093/bioinformatics/bty841

https://nanoporetech.com/about-us/news/blog-kilobases-whales-short-history-ultra-long-reads-and-high-throughput-genome

Е.Н. Патова<sup>1</sup>, И.В. Новаковская<sup>1</sup>, Е.С. Гусев<sup>2</sup>, Д.М. Шадрин<sup>1</sup>, М.Д. Сивков<sup>1</sup>

# РАЗНООБРАЗИЕ ЦИАНОБАКТЕРИЙ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ПОЧВЕННЫХ КОРКАХ СЕВЕРНЫХ РЕГИОНОВ УРАЛА НА ОСНОВЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ И МЕТАГЕНОМНЫХ ПОДХОДОВ

E.N. Patova<sup>1</sup>, I.V. Novakovskaya<sup>1</sup>, E.S. Gusev<sup>2</sup>, D.M. Shadrin<sup>1</sup>, M.D. Sivkov<sup>1</sup>

# DIVERSITY OF CYANOBACTERIA IN BIOLOGICAL SOIL CRUSTS OF THE NORTHERN REGIONS OF THE URALS ON THE BASIS OF MORPHOLOGICAL AND METAGENOMIC APPROACHES

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, Сыктывкар, Россия patova@ib.komisc.ru

<sup>2</sup>Институт проблем экологии и эволюции им А.Н. Северцова Российской академии наук, Москва, Россия

В горных регионах биологические почвенные корки (Biological soil crust — BSC), сформированные широким спектром прокариотных и эукариотных организмов, являются доминирующими первичными продуцентами на оголенных криогенных субстратах. Цианобактерии—важный функциональный компонент таких криптогамных сообществ. Цель исследования—обобщение сведений по таксономическому и структурному разнообразию сообществ цианобактерий BSC с применением традиционных морфологических подходов и подходов ДНК-метабаркодинга. Видовое разнообразие цианобактерий выявлено методами прямой микроскопии свежесобранных образцов, культуральными методами и методами анализа тотальной ДНК с использованием ДНКметабаркодинга. Впервые на основе морфологических и метагеномных подходов получены сведения о таксономическом разнообразии сообществ фототрофных микроорганизмов различных вариантов биологических почвенных корок горных на криогенных пятнах в разнообразных горно-тундровых сообществах северных районов Урала. На основе морфологических подходов в BSC, собранных в разных вариантах горно-тундровых сообществ на территории северных регионов Урала обнаружено 135 видов цианобактерий. На основе высокопроизводительного секвенирования ампликонов 16S рДНК прокариот для 8 разных вариантов BSC, собранных на экологическом профиле в горных тундрах Урала, было идентифицировано 1704 нуклеотидных последовательностей (н.п.) различных эукариотических организмов. Для Cyanobacteria было выявлено 196 н.п., из которых идентифицировано 29 таксонов, остальные последовательности возможно представляют новые для науки виды, что требует тщательного дальнейшего анализа полученных данных. К ведущим по числу видов относятся роды Aphanothece, Calothrix, Chroococcus, Gloeocapsa, Leptolyngbya, Phormidium, Stigonema, Nostoc, Tolypothri. Необходимо отметить, что в списке лидирующих таксонов в основном отмечены представители родов, формирующих доминантные комплексы BSC. Число таксономических единиц различалось для разных типов BSC и составляло от 9 до 22 видов.

Сочетание двух подходов классического, основанного на морфологических признаках, и ДНК-метабаркодирования с выделением тотальной ДНК из почвы с последующим ее анализом позволило расширить представления о разнообразии основных функциональных групп фотосинтезирующих организмов, формирующих основу сообществ пионерной растительности в горных тундрах. Всего в биологических почвенных корках из разных горных сообществ северных регионов Урала выявлено 158 таксонов (рангом ниже рода). Среди цианобактерий выделены доминантные и индикаторные таксоны, формирующих горную микробиоту ВSC.

Финансирование. Исследования выполнены при поддержке грантов РНФ № 22-24-00673 (https://rscf.ru/project/22-24-00673/) и № 21-14-00029 (https://rscf.ru/project/21-14-00029/).

О.А. Родина<sup>1</sup>, К.В. Сазанова<sup>2</sup>, А.А. Вильнет<sup>1</sup>, Д.А. Давыдов<sup>1</sup>, А.Л. Шаварда<sup>2</sup>, Д.Ю. Власов<sup>2</sup>

### МЕТАБОЛОМ ЛИТОБИОНТНЫХ ЦИАНОБАКТЕРИАЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ ГОРЫ АЙКУАЙВЕНЧОРР (ХИБИНЫ, МУРМАНСКАЯ ОБЛАСТЬ)

O.A. Rodina<sup>1</sup>, K.V. Sazanova<sup>2</sup>, A.A. Vilnet<sup>1</sup>, D.A. Davydov<sup>1</sup>, A.L. Shavadra<sup>2</sup>, D.Yu. Vlasov<sup>2</sup>

# METABOLOM OF LITOBIONT CYANOBACTERIAL COMMUNITIES OF AIKUAIVENCHORR MOUNTAIN (KHIBINY, MURMANSK REGION)

<sup>1</sup>Полярно-альпийский ботанический сад-институт им. Н.А. Аврорина ФИЦ КНЦ РАН, Апатиты, Россия, o.rodina@ksc.ru, a.vilnet@ksc.ru, d.davydov@ksc.ru

<sup>2</sup>Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия, KSazanova@binran.ru, shavarda@binran.ru, dmitry.vlasov@mail.ru

Литобионтные сообщества интересны своей геохимической активностью, так как вовлечены в такие значимые процессы, как выветривание горных пород и первичное почвообразование. Литобионтные организмы обеспечивают рециркуляцию основных органических элементов, таких как углерод и азот (Rousk, Bengtson, 2014). Рост микроорганизмов на поверхности горных пород, как правило, происходит в биоплёнках. В их состав, кроме самих микроорганизмов (водоросли, бактерии, грибы, лишайники, простейшие), входят внеклеточные вещества — продукты жизнедеятельности микробного сообщества (Berdoulay, Salvado, 2009). Надорганизменные системы (сообщества организмов) остаются практически неизученными на уровне метаболома. Системный анализ метаболитной сети является ключевым для исследования процессов адаптации организма к условиям окружающей среды. Актуальность изучения состава цианобактерий и их метаболизма связана с тем, что они являются одним из основных компонентов литобионтных биопленок и способны первыми колонизировать открытые поверхности горных пород в различных условиях.

Целью данной работы является выявление видового состава и пространственного распределения метаболитов цианобактериальных обрастаний на поверхности обнажений горных пород горы Айкуайвенчорр.

Всего было отобрано и изучено 10 проб различных литобионтных биопленок с поверхности каменистого субстрата на горе Айкуайвенчорр в двух точках: ущелье «Городская щель» (67°37'11.9432", 33°42'20.8530") — склон западной экспозиции и на склоне северо-западной экспозиции близ ул. Кольская (67°37'38.2592", 33°41'51.1026"). Пробы отбирали в стерильные полиэтиленовые пакеты. Идентификация видов проводилась с использованием световой микроскопии по морфологическим признакам по классическим определителям (Голлербах и др., 1953; Коmárek, Anagnostidis and Komárek, 2008a; 2008b; Коmárek and Кomárek 2013). Состав прокариот некоторых проб был изучен с помощью метагеномного анализа по 16S рРНК. Для анализа метаболома пробы биопленок экстрагировали метанолом. Экстракты выпаривали до сухого остатка, растворяли в пиридине и получали ТМС (триметил-силил-производные) соединений. Анализ выполняли методом газовой хроматографии / масс — спектрометрии (ГХ-МС) на приборе Маеstro instrument (Interlab, Russia) с детектором Agilent 5975. Колонка HP-5MS, 30 m X 0.25 mm X 0.25 μm. Хроматограммы были записаны по полному ионному току. Статистический

анализ был выполнен в программе MetaboAnalyst (https://www.metaboanalyst.ca).

По морфолигическим признакам всего было выявлено 15 таксонов цианобактерий ранга ниже рода: Aphanocapsa cf. muscicola, Aphanocapsa cf. reinboldii, Aphanocapsa sp., Aphanothece sp., Chalicogloea sp., Chlorogloea sp., Gloeocapsa kuetzingiana, Gloeocapsopsis magma, Leptolyngbya sp., Microcoleus cf. autumnalis, Nostoc commune, Nostoc sp., Oscillatoria tenuis, Stigonema minutum, Tolypothrix tenuis. Данные метагеномных исследований показывают доминирование цианобактерий в изученных сообществах от 48 до 75 % от числа всех прокариот. Выявлено 19 родовых таксонов. При этом некоторые таксоны, которые были определены классическими методами, не были выявлены метагеномным анализом. Это может быть связано с методическими сложностями на разных этапах исследования: от момента выделения ДНК до сравнения с референсной базой, в которой может оказаться недостаточное количество данных. Тем не менее, сочетание различных методов дает возможность наиболее объективно оценить разнообразие прокариот в литобионтном сообществе.

Результаты ГХ-МС анализа образцов показали присутствие во всех пробах моно-, ди-и трисахаров, гликозидов, полиолов, сахарокислот, жирных кислот, кислот цикла Кребса, терпенов (фитол и неофитадиен), фенольных соединений (бензойная кислота, токоферол, 1,3-дигидроксиантрахинон, бензальдегид, гидроксихинон), стеринов и алкалоидов (оксид кариофиллена). В большинстве проб содержалось азотистое основание уридин. Ряд соединений не был идентифицирован. В целом пробы характеризовались высоким содержанием сахаров, сахарокислот и гликозидов. Доминирующими моносахарами были глюкоза, фруктоза и манноза. Среди дисахаров были идентифицированы сахароза, трегалоза и генциобиоза, преобладала среди выявленных дисахаридов сахароза. Трисахариды не были идентифицированы с точностью до соединения. Главным образом пробы отличаются по количественному составу сахароза. и их соотношению. Как правило, в темноокрашенных биопленках преобладает трегалоза и сахароза.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 21-14-00029.

- Голлебах М.М., Косинская Е.К., Полянский В.И. (1953): Синезеленые водоросли/Определитель пресноводных водорослей СССР. М., Вып. 2. 653 с.
- Berdoulay, M. & Salvado J. C. (2009): *Genetic Characterization of Microbial Communities Living at the Surface of Building Stones*. Letters in Applied Microbiology 49 (3): 311–16.
- Komárek, J., Anagnostidis, K., & Komárek, J. (2008a): *Chroococcales*. Unaltered repr. Cyanoprokaryota, Heidelberg, Spektrum Akad. Verl., 548 pp.
- Komárek, J., Anagnostidis, K., & Komárek, J. (2008b): *Oscillatoriales*. Unaltered repr. Cyanoprokaryota, Heidelberg, Spektrum Akad. Verl.,759 pp.
- Komárek, J. & Komárek, J. (2013): *Heterocytous Genera*. Cyanoprokaryota, Teil 3. Berlin Heidelberg, Springer-Spektrum, 1130pp.
- Rousk, J.; Bengtson, P. (2014): *Microbial regulation of global biogeochemical cycles*. Frontiers in Microbiology 5(225):103.

О.А. Родина, И.А. Чернышова, Б.А. Шевченко, Д.Д. Снарская, О.В. Франк-Каменецкая

### БИОМИНЕРАЛИЗАЦИЯ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ЦИАНОБАКТЕРИЙ В ОБОГАЩЕННЫХ КАЛЬЦИЕМ РАСТВОРАХ

O.A. Rodina, I.A. Chernyshova, B.A. Shevchenko, D.D. Snarskaya, O.V. Frank-Kamenetskaya

### BIOMINERALIZATION WITH CYANOBACTERIA IN CALCIUM ENRICHED SOLUTIONS

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия, oksid93@bk.ru, i.a.chernyshova@yandex.ru, vvku2761@gmail.com, dina.snarskaya@spbu.ru, ofrank-kam@mail.ru

Цианобактерии — это группа бактерий, способных фиксировать углекислый газ и использовать его в процессе фотосинтеза с дальнейшим выделением кислорода (Whitton, Potts, 2012). Известно, что цианобактериальные сообщества способствуют образованию карбонатов кальция (в первую очередь, кальцита и арагонита), а также фосфатов (Астафьева и др., 2021) и ряда других минералов. Карбонатообразование под действием цианобактериальных сообществ является значимым процессом в биогеохимическом цикле углерода в экосистемах (Каmennaya

et al., 2012). Всестороннее понимание процесса минерализации под действием цианобактерий необходимо для возможности в полной мере оценить и использовать этот процесс в моделировании и прогнозировании круговорота и баланса углерода в мире, а также улучшить интерпретации палеонтологических данных.

Целью настоящей работы является изучение биоминерализации цианобактерий в обогащенных кальцием растворах в условиях эксперимента.

Для моделирования биоминерализации было выбрано 9 штаммов цианобактерий различающихся по морфологическим характеристикам из коллекции CALU (Collection of Algae of Leningrad University): со слизистым чехлом (*Scytonema* sp. (№557), *Calothrix elenkenii* (№794), *Nostoc* sp. (№1840), *Chalicogloea* sp. (№1842)); без слизистого чехла (*Synechococcus* sp. (№535), *Phormidium favosum* (№623), *Oscillatoria formosa* (№660), *Leptolyngbya* sp. (№1171), *Pseudanabaena* sp. (№1837)).

Биомассу цианобактерий выращивали в течение месяца в световом шкафу при постоянном освещении в 200 мл модифицированной среды BG-11 (Темралеева и др., 2014) с уменьшением количества NaNO $_3$  в 5 раз. Далее биомассу центрифугировали для удаления питательной среды. Затем биомассу цианобактерий добавили в стерильный раствор солей CaCl $_2$  (2,9 и 5,8 mM) и NaHCO $_3$  (1,4 mM) в dH $_2$ O и поместили в климакамеру с температурой 22  $^0$ C и освещением деньночь (16-8 ч соответственно). На первые сутки из суспензии клеток, раствора и осадка отобрали 1/5 вещества, оставшийся раствор с цианобактериями выдерживали 4 месяца. Полученный осадок сушили при комнатной температуре. На всех этапах эксперимента были отобраны контрольные образцы: питательная среда BG-11, биомасса цианобактерий после культивирования, раствор солей.

Кристаллическую компоненту биомассы на этапе культивирования и продукты кристаллизации в растворах при участии цианобактерий исследовали методами порошковой рентгенографии и сканирующей электронной микроскопии. Определение соотношения фаз проводили методом Ритвельда в программе TOPAS v.5.

Результаты рентгеновских исследований показали, что в среде BG-11 минеральная фаза не образуются, в то время как в культивированной биомассе был обнаружен оксид марганца, а в растворе солей образовался хлорид натрия. Через одни сутки после добавления цианобактерий в раствор солей во всех экспериментах были получены минеральные фазы. Минеральный состав осадков через четыре месяца хорошо согласуется с результатами первых суток: под действием всех цианобактерий образовались кальцит и апатит. Образование апатита связано с выделением цианобактериями фосфора в раствор солей: в составе EPS, или при разрушении клеток. Кроме того, во всех образцах был зафиксирован оксид марганца (который получен под воздействием цианобактерий в питательной среде впервые). При концентрации CaCl<sub>2</sub> равной 5.8 mM под действием штамма Oscillatoria formosa дополнительно образовался карбонат кальция ватерит, а под действием штамма Phormidium favosum два вида кальцита с разным положением дифракционных максимумов, что может говорить о разном содержании в кальцитах магния и требует дальнейшего изучения.

Выявлена связь между видовым составом цианобактерий и соотношением кальцит/ апатит в осадке, в зависимости от концентрации  $\mathrm{CaCl}_2$ . По результатам исследования влияния концентрации  $\mathrm{CaCl}_2$  в растворе на образование минеральных фаз хорошо выделяются четыре группы цианобактерий: 1). Scytonema sp. и Calothrix elenkenii — бактерии, которые вне зависимости от концентрации  $\mathrm{CaCl}_2$  образуют преимущественно карбонат кальция кальцит; 2). Phormidium favosum, Pseudanabaena sp. и Synechococcus sp. — с увеличением концентрации соотношение кальцит\апатит увеличивается; 3). Oscillatoria formosa—с увеличением концентрации соотношение кальцит\апатит уменьшается; 4). Nostoc sp. и Chalicogloea sp. — вне зависимости от содержания  $\mathrm{CaCl}_2$  образуют преимущественно апатит.

Степень изъеденности граней кристаллов кальцита, образовавшихся под воздействием бактерий 1 и 4 группы меняется с течением времени и также не зависит от концентрации  $CaCl_2$  в растворе. Изъеденность граней кристаллов кальцита, образовавшихся во 2 и 3 группах, изменяется не только с течением эксперимента, но и с изменением концентрации  $CaCl_2$  в растворе.

Таким образом, видно, что наличие слизистых чехлов существенно влияет на фазовый состав

осадка и морфологию образующихся кристаллов кальцита. Можно предположить, что отсутствие зависимости соотношения кальцит/апатит от концентрации кальция в растворе при наличии чехлов (в 1 и 4 группах) связано с локальными условиями кристаллизации вблизи клеточной стенки цианобактерий.

Исследование выполнено в ресурсных центрах СПбГУ «Рентгенодифракционные методы исследования», «Центр микроскопии и микроанализа» и «Культивирование микроорганизмов».

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 19-17-00141

- Астафьефа М.М., Жегалло Е.А., Ривкина Е.М., Самылина О.С., Розанов А.Ю., Зайцева Л.В., Авдонин В.В., Карпов Г.А., Сергеева Н.Е. (2021). БАКТЕРИАЛЬНАЯ ПАЛЕОНТОЛОГИЯ. Под ред. А.Ю. Розанова М.: РАН, 2021—124 с.
- Темралеева А.Д., Минчева Е.В., Букин Ю.С., Андреева А.М. (2014) Современные методы выделения, культивирования и идентификации зеленых водорослей (Chlorophyta). — Кострома: Костромской печатный дом — 215 с.
- Kamennaya, N.A.; Ajo-Franklin, C.M.; Northen, T.; Jansson, C. (2012) *Cyanobacteria as Biocatalysts for Carbonate Mineralization Minerals*, *2*: 338-364. https://doi.org/10.3390/min2040338
- Whitton, B.A., Potts, M. (2012). *Introduction to the Cyanobacteria*. In: Whitton, B. (eds) Ecology of Cyanobacteria II. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-007-3855-3\_1.

#### О.С. Самылина

### МЕЖ ДВУХ МИРОВ: CYANOPHYTA VS. CYANOBACTERIOTA

O.S. Samylina

#### BETWEEN TWO WORLDS: CYANOPHYTA VS. CYANOBACTERIOTA

Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, Россия olga.samylina@gmail.com

В названии нашей школы-конференции присутствуют одновременно два термина — «цианопрокариоты» и «цианобактерии», что отчасти отражает многолетнюю научную борьбу за формальную принадлежность целого филума оксигенных фототрофных бактерий к миру альгологии или же микробиологии. Термин «цианобактерии» был предложен микробиологом Роджером Стениером в начале 1970-х в качестве альтернативы термину «сине-зеленые водоросли» и стал прямым указанием на прокариотную организацию клеток этих микроорганизмов (Stanier, 1977). Во 2-ом издании «Bergey's Manual of Systematic Bacteriology» он был узаконен в качестве названия филума ВХ *Cyanobacteria* (Castenholz et al., 2001). Термин «цианопрокариоты» ввел в широкое обращение альголог Иржи Комарек, начав использовать в своих публикациях в 1990-х и закрепив в определителях серии «Süsswasserflora von Mitteleuropa» (Коmárek, Anagnostidis, 1998; Коmárek, Anagnostidis, 2005; Коmárek, 2013). Этот термин используется преимущественно альгологами в качестве синонима официального названия ботанического отдела/филума *Cyanophyta*, но не имеет таксономической легитимности.

Так каков же статус цианобактерий в 2023 г.? Достигнут ли номенклатурный консенсус между альгологами и микробиологами? И остаётся ли до сих пор научная необходимость в параллельном использовании различных терминов, обозначающих одно и то же?

Поскольку систематика цианобактерий сложилась в рамках ботанических правил описания новых таксонов, её номенклатура традиционно подчиняется положениям Международного кодекса номенклатуры водорослей, грибов и растений (ICN; ранее ICBN; «Ботанический кодекс»). Но в 1978 г., после того, как стала очевидна прокариотическая природа этих микроорганизмов, Р. Стениер с соавторами предложили подчинить их номенклатуру правилам Международного кодекса номенклатуры прокариот (ICNP; ранее ICNB; «Прокариотический кодекс») (Stanier et al., 1978). Это предложение встретило сопротивление со стороны альгологов, но и Международным комитетом по систематике бактерий (ICSB; сейчас ICSP) в те годы оно не было официально одобрено. Только в 1999 г. при внесении очередных изменений в «Прокариотический кодекс» в него были включены и цианобактерии. Однако проблема интеграции цианобактерий с их уже существующей «ботанической» классификацией в «прокариотическую» и взаимного признания новых таксонов долгие годы оставалась нерешенной, как из-за фундаментальных различий между альгологическими и микробиологическими подходами к описанию таксонов, так и из-за формальных различий между

двумя кодексами (Oren, Ventura, 2017). Существенные подвижки начались лишь в середине 2010-х, когда на страницах журнала «International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology» (IJSEM) были обозначены и аргументированы три альтернативных пути решения наболевшей проблемы (Oren, 2020). В 2021 г. Международный комитет по систематике прокариот (ICSP) официально постановил признать таксономические названия цианобактерий, валидно описанные в рамках «Ботанического кодекса», законными также и в рамках «Прокариотического кодекса», для чего были внесены необходимые изменения в ICNP (Oren et al., 2021а).

Следующий шаг был сделан в связи с решением ICSP подчинить номенклатуру филумов правилам ICNP: названия филумов должны создаваться на основе названия типового рода и оканчиваться на — ota (Oren et al., 2021b). Для цианобактерий согласно правилам «Прокариотического кодекса» потребовалась валидация названия типового рода *Cyanobacterium*, совместно с которой было предложено новое название филума — *Cyanobacteriota* (Oren et al., 2022). Так цианобактерии прошли свой непростой путь длиной в 45 лет (1978→2022) к полноценной интеграции в микробиологическую таксономию и номенклатуру.

Нужно добавить, что принципы и подходы к описанию новых таксонов в альгологии также претерпели серьёзные изменения. Систематика цианобактерий прошла путь от морфолого-экологической классификации Л. Гайтлера (Geitler, 1932) через полифазную классификацию И. Комарека (Komárek et al., 2014) к обновленной с учётом геномных сравнений классификации О. Струнецкого с соавт. (Strunecký et al., 2023). В итоге принципы разграничения отдельных таксонов в альгологии и микробиологии стали значительно ближе, чем это было ранее.

Итак, в настоящее время существуют два легитимных наименования филума циано-бактерий — «альгологический» *Cyanophyta* и «микробиологический» *Cyanobacteriota*. Очевидно, что использование в научных работах (публикациях, докладах) того или иного наименования зависит лишь от контекста. Но как поступать на площадках, которые, подобно нашей школеконференции, должны объединять и альгологов, и микробиологов? Быть может, стоит переосмыслить название школы-конференции, указывающее на борьбу двух научных дисциплин за общий объект исследований, и изменить громоздкую формулировку «цианопрокариоты/ цианобактерии»?..

Работа выполнена при частичной поддержке проекта РНФ № 22-14-00038.

- Castenholz, R.W., Wilmotte, A., Herdman, M., Rippka, R., Waterbury, J.B., Iteman, I. & Hoffmann, L. (2001): Phylum BX. Cyanobacteria. Boone, D.R., Castenholz, R.W., Garrity, G.M. (eds) Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology. Springer, New York, NY. P. 473–599.
- Geitler, L. (1932): Cyanophyceae. Rabenhorst's Kryptogamen flora. Vol. 14. Leipzig: Akademische Verlag, 1196 pp.
- Komárek J. (2013): Cyanoprokaryota—3. Teil/Part 3: Heterocytous Genera. Büdel B., Gärtner G., Krienitz L. & Schagerl M. (Eds.), Süswasserflora von Mitteleuropa (Freshwater Flora of Central Europe) 19/3, Springer Spektrum Berlin, Heidelberg, 1130 pp.
- Komárek, J. & Anagnostidis, K. (1998): Cyanoprokaryota—1.Teil: Chroococcales. Ettl H., Gärtner G., Heynig H. & Mollenhauer D. (eds.), Süsswasserflora von Mitteleuropa 19/1, Gustav Fischer, Jena-Stuttgart-Lübeck-Ulm, 548 pp.
- Komárek, J. & Anagnostidis, K. (2005): Cyanoprokaryota—2. Teil: Oscillatoriales. Büdel B., Krienitz L., Gärtner G. & Schagerl M. (eds), Süsswasserflora von Mitteleuropa 19/2, Elsevier/Spektrum, Heidelberg, 759 pp.
- Komárek, J., Kaštovský, J., Mareš, J. & Johansen, J. R. (2014): Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera) 2014, using a polyphasic approach. *Preslia* 86:295—335.
- Oren, A. (2020): Three alternative proposals to emend the Rules of the International Code of Nomenclature of Prokaryotes to resolve the status of the Cyanobacteria in the prokaryotic nomenclature. IJSEM 70(7): 4406—4408.
- Oren, A., Arahal, D. R., Rosselló-Móra, R., Sutcliffe, I. C., & Moore, E.R.B. (2021a): Emendation of General Consideration 5 and Rules 18a, 24a and 30 of the International Code of Nomenclature of Prokaryotes to resolve the status of the Cyanobacteria in the prokaryotic nomenclature. *IJSEM* 71(8): 10.1099/ijsem.0.004939.
- Oren, A., Arahal, D.R., Rosselló-Móra, R., Sutcliffe, I.C., & Moore E.R.B. (2021b): Emendation of rules 5b, 8, 15, and 22 of the International Code of Nomenclature of Prokaryotes to include the rank of phylum. *IJSEM* 71(6): 10.1099/ijsem.0.004851.
- Oren, A., Mareš, J., & Rippka, R. (2022): Validation of the names *Cyanobacterium* and *Cyanobacterium stanieri*, and proposal of *Cyanobacteriota* phyl. nov. *IJSEM* 72(10): 10.1099/ijsem.0.005528.
- Oren, A., & Ventura, S. (2017): The current status of cyanobacterial nomenclature under the "prokaryotic" and the "botanical" code. *Antonie van Leeuwenhoek* 110(10): 1257—1269.

- Stanier, R. Y. (1977): The position of cyanobacteria in the world of phototrophs. *Carlsberg Res. Commun* 42: 77—98.
- Stanier, R.Y., Sistrom, W.R., Hansen, T.A., Whitton, B.A., Castenholtz, R.W., Pfennig, N., Gorlenko, V.N., Kondratieva, E.N., Eimhjellen, K.E., Whittenbury, R., Gherna, RL. & Truper, H.G. (1978): Proposal to place the nomenclature of the cyanobacteria (blue-green algae) under the rules of the International Code of Nomenclature of Bacteria. *IJSB* 28(2): 335—336.
- Strunecký O., Ivanova, A.P., & Mareš, J. (2023): An updated classification of cyanobacterial orders and families based on phylogenomic and polyphasic analysis. *J. Phycol.* 59(1):12—51.

#### С.И. Сиделев

# ОЦЕНКА ЧИСЛЕННОСТИ МИКРОЦИСТИН-ПРОДУЦИРУЮЩИХ *MICROCYSTIS* В МЕЛКОВОДНОМ ЭВТРОФНОМ ОЗЕРЕ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ПЦР В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ (QRT-PCR)

S.I. Sidelev

# ESTIMATION OF THE NUMBER OF MICROCYSTIN-PRODUCING MICROCYSTIS IN A SHALLOW EUTROPHIC LAKE USING QUANTITATIVE REAL-TIME PCR

Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, Ярославль, Россия sidelev@mail.ru

Microcystis относится к широко распространенному в озерах и водохранилищах по всему миру роду цианобактерий, вызывающих токсичное цветение воды (Harke et al., 2016). Виды Microcystis способны продуцировать микроцистины (MC) — циклические гептапептиды, относящиеся к группе гепатотоксинов, с общим количеством известных на данный момент изоформ — 246. По биологической активности МС являются ингибиторами эукариотных протеинфосфатаз 1 и 2А, вызывают оксидативный стресс и относятся к канцерогенным и мутагенным факторам (Apeldoorn et al., 2007). Описаны случаи массового отравления людей МС со смертельными исходами (Jochimsen et al., 1998). В связи с этим во многих странах мира, в том числе в России (с 2021 г.) введены безопасные уровни концентраций МС в водоемах питьевого и рекреационного назначения, а также в питьевой воде. Основным методом детекции токсичных молекул МС является хромато-масс-спектрометрия. Однако, несмотря на высокую чувствительность и потрясающую селективность, этот подход остается очень дорогостоящим и малодоступным в России. До сих пор самым распространенным и дешевым инструментом мониторинга токсичных цианобактерий остается метод световой микроскопии, позволяющий определять потенциальных продуцентов МС до уровня вида и измерять их численность и биомассу в пробе. Открытым вопросом является поиск подходящих показателей, которые хорошо бы коррелировали с концентрациями МС и позволяли быстро и надежно оценивать риск загрязнения водной среды цианотоксинами. По-видимому, наиболее надежным из таких индикаторов может быть численность МСпродуцирующих клеток. Однако, токсигенные и нетоксигенные штаммы цианобактерий морфологически не отличаются друг от друга, поэтому использование традиционного метода камеральной обработки проб фитопланктона под световым микроскопом в большинстве случаев может переоценивать риск цианотоксичного загрязнения воды. В связи с этим метод количественной ПЦР в режиме реального времени (РВ-ПЦР, qRT-PCR) является многообещающим вариантом решения данной проблемы. Этот новый подход в области исследования токсичных цианобактерий позволяет определять число копий генов биосинтеза МС в матрицах природной ДНК, что эквивалентно численности продуцентов МС, клетки которых содержат гены тсу.

Мы апробировали данный подход для оценки численности МС-продуцирующих видов *Microcystis*, обитающих в небольшом эвтрофном озере Неро (Ярославская область, Россия). Пробы фитопланктона для анализа отбирались в августе 2018 г. Природная ДНК из этих проб выделялась с помощью набора реагентов Экстран-3 (Синтол, Россия). Для определения числа копий гена *mcyE* в образцах природной ДНК с помощью пары *Microcystis*-специфичных праймеров mcyEF2/ MicmcyE-R8 (Vaitomaa et al., 2003) готовились стандартные образцы геномной ДНК, выделенной из клеток штамма *M. aeruginosa* РСС 7806 с известной численностью. Получившийся ДНК стандарт последовательно двукратно разводили стерильной водой с получением 16 серий стандартных образцов ДНК, концентрации которой были эквивалентны градиенту численности *Microcystis* 

от 13 млн. клеток до 40 клеток. Анализ полученных результатов проводился пороговым методом (Ct) с помощью программного обеспечения амплификатора CFX96Touch (Bio-Rad, CША).

период исследования в озере Неро методом световой микроскопии было идентифицировано присутствие трех видов рода Microcystis, наиболее обильными были M. aeruginosa и М. wesenbergii, спорадически на отдельных станциях отмечен М. viridis. Общая численность видов Microcystis на станциях северной и центральной частей озера Неро изменялась от 2426 до 7457 тыс. кл./л. Ген биосинтеза микроцистинов *mcyE* был успешно амплифицирован во всех образцах природной ДНК, выделенной из планктонных проб, что подтвердило присутствие MC-продуцирующих Microcystis на всех исследованных станциях. Оценка численности mcyE ген-содержащих Microcystis с использованием метода РВ-ПЦР показала их присутствие в озере на разных станциях в количестве от 1338  $\pm$  87 до 2 667  $\pm$  429 тыс. кл./л. Таким образом, полученные результаты подтвердили основную гипотезу исследования. Как и ожидалось, общая численность Microcystis во всех пробах из планктонной части озера, определенная с помощью метода световой микроскопии, оказалась выше таковой, измеренной методом РВ-ПЦР. Это объяснялось тем, что с помощью нового подхода количественной ПЦР оценивалось количество клеток *Microcystis*, содержащих ген *mcyE* и способных, таким образом, потенциально продуцировать МС; в то время как метод световой микроскопии не способен дифференцировать MC-продуцирующие и MC-непродуцирующие Microcystis, поскольку по фенотипу они идентичны. Из литературы известно, что встречаемость МС-продуцирующих генотипов среди разных видов Microcystis в природных условиях неодинакова. Показано, что в природных популяциях M. aeruginosa и M. viridis наблюдается очень высокая доля (в среднем > 90%) МС-продуцирующих колоний, в то время как M. wesenbergii не способен продуцировать MC (Sidelev et al., 2020). В планктонной части озера Неро в период исследования вклад M. wesenbergii в общую численности Microcystis был значительным, изменяясь от 33 до 63%. Таким образом, метод световой микроскопии, очевидно, переоценивал численность токсигенных генотипов Microcystis в озере, что и было подтверждено с использованием количественной ПЦР в реальном времени. Насколько нам известно, это первое сообщение о применении метода ПЦР в режиме реального времени для количественного исследования токсичных цианобактерий в российских пресных водах.

Работа выполнена в научно-образовательной лаборатории "Молекулярная генетика и биотехнология" в рамках программы развития ЯрГУ до 2030 г. (№ 123042800011-6).

- Apeldoorn, M.E., Egmond, H.P., Speijers, G.J.A. et al. (2007): Toxins of cyanobacteria Mol. Nutr. Food Res. 51: 7—60.
- Harke, M.J., Steffen, M.M., Gobler C.J. et al. (2016): A review of the global ecology, genomics, and biogeography of the toxic cyanobacterium. *Microcystis* spp. Harmful Algae 54: 4—20.
- Jochimsen, E.M., Carmichael, W.W., An, J.S. et al. (1998): Liver failure and death after exposure to microcystins at a hemodialysis center in Brazil N. Engl. J. Med. 338 (13): 873—878.
- Sidelev S., Zubishina A., Chernova E. (2020): Distribution of microcystin-producing genes in *Microcystis* colonies from some Russian freshwaters: Is there any correlation with morphospecies and colony size Toxicon 184: 136—142.
- Vaitomaa, J., Rantala, A., Halinen, K. Et al. (2003): Quantitative real-time PCR for determination of microcystin synthetase E copy numbers for *Microcystis* and *Anabaena* in lakes — Appl. Environ. Microbiol. 69 (12): 7289—7297.

### М.М. Смирнова

# ВЛИЯНИЕ ЦИАНОБАКТЕРИАЛЬНЫХ ЦВЕТЕНИЙ НА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ВОДЫ ПРИБРЕЖНОЙ ЗОНЫ КУРШСКОГО ЗАЛИВА БАЛТИЙСКОГО МОРЯ

#### M.M. Smirnova

# THE EFFECT OF CYANOBACTERIAL BLOOMS ON THE MICROBIOLOGICAL PARAMETERS OF WATER OF THE COASTAL ZONE OF THE CURONIAN LAGOON OF THE BALTIC SEA

Институт океанологии им. П.П. Ширшова РАН, Москва, Россия, smirnova-mm@mail.ru

Куршский залив — крупнейшая лагуна Балтийского моря, полузакрытая, мелководная, преимущественно пресноводная, гипертрофная (Александров, Горбунова, 2012; Ланге, 2013). С начала 2000-х годов цианобактериальные цветения с доминированием потенциально-токсичных

видов, достигающие уровня гиперцветения, стали регулярными (Александров, Дмитриева, 2006; Ланге, 2013). Скопление большого количества биомассы фитопланктона в прибрежной зоне Куршского залива вызывает ряд неблагоприятных последствий (Александров, Дмитриева, 2006; Ежова и др., 2012; Sulcius et al., 2015; Aleksandrov et al., 2018).

Цель данной работы — оценить влияние цианобактериальных цветений на микробиологические показатели воды прибрежной зоны Куршского залива.

Станция наблюдения расположена в литорали западного побережья южной части Куршского залива (55°02'02,3"N 20°39'15,4"E) и представляет собой небольшую бухту, окруженную поясом высшей водной растительности. Пробы воды отбирали из поверхностного горизонта во время осенних цианобактериальных цветений (06.10.2013 г. и 03.10.2014 г.) и после завершения цветений (22.10.2014 г. и 17.11.2016 г.). Отбор проб и посев проводили стандартными методами (Общая..., 2004). Определяли численность сапрофитных бактерий, относительное содержание анаэробных бактерий; посевы инкубировали при 37 °C. В 2016 г. также определяли бактериальную численность при 22 °C. Идентификацию бактерий проводили по определителю (Определитель..., 1997).

Из бактериопланктона воды прибрежной зоны Куршского залива были выделены представители пяти родов бактерий: Staphylococcus, Aeromonas, Micrococcus, Pseudomonas, Bacillus и семейства Enterobacteriaceae. Минимальная численность сапрофитных бактерий — 3,7 тыс. колониеобразующих единиц в 1 мл воды (КОЕ/мл) — отмечена в ноябре 2016 г., что, главным образом, обусловлено более низкой температурой воды (5 °C) во время отбора проб, по сравнению с другими съемками (9-12 °C). Максимальная численность сапрофитов (410 тыс. КОЕ/мл) отмечена в конце октября 2014 г. сразу после завершения цветения, в то время как в начале месяца во время цветения численность сапрофитов была в четыре раза меньше и составляла 100 тыс. КОЕ/мл. В 2013 г. численность сапрофитных бактерий составляла 11 тыс. КОЕ/мл. Доля анаэробных бактерий в 2014 г. составляла 56 % и 80 % во время и после цветения соответственно, в 2016 г. — 42 %. Численность сапрофитных бактерий при 22 °C (количественный показатель автохтонной микрофлоры) составила 2,7 тыс. КОЕ/мл.

нашим Согласно наблюдениям, большое количество органического вещества, при разложении скопления масс фитопланктона, поступающего в воду оказывает значительное влияние на микробиологические показатели. Так, за период исследований, несмотря на осенний сезон года, численность сапрофитных бактерий достигала значений, отмеченных в летний период — десятки и сотни тысяч КОЕ/мл (Цыбалева, Казимирченко, 2016). В течение октября 2014 г. численность сапрофитов увеличилась более чем в четыре раза, доля анаэробных бактерий возросла до 80 % (наибольшее отмеченное значение). В это время в прибрежной зоне было отмечено гиперцветение, сформированное преимущественно Aphanizomenon flos-aquae, биомасса которого достигала 22 кг/м $^3$  (за счет ветрового сгона)(Sulcius et al., 2015).

Соотношение численных показателей бактериального роста при 22 °C и 37 °C свидетельствуют о преобладании аллохтонной микрофлоры. За период исследований (кроме конца октября 2014 г.) содержание споровых бацилл не превышало 10 % от общей численности сапрофитов, что характерно для эвтрофных водоемов. Интенсивное развитие сапрофитных бактерий вследствие разложения фитопланктона также имеет неблагоприятные последствия, так как среди выделенных родов бактерий имеются патогенные и условно-патогенные для гидробионтов и человека виды, что ухудшает санитарное состояние водоема.

Согласно полученным данным, воды прибрежной зоны Куршского залива во время и после осенних цианобактериальных цветений характеризовались как  $\alpha$ -мезо — и полисапробные «загрязненные» и «очень грязные», что соответствует эвтрофному и гипертрофному статусу водоема; в ноябре 2016 г. качество воды было несколько лучше — «умеренно грязные»,  $\beta$ -мезосапробные.

Таким образом, цианобактериальные цветения оказывают существенное влияние на микро-биологические показатели воды прибрежной зоны Куршского залива: приводят к увеличению численности сапрофитных бактерий и изменению качественного состава бактериопланктона, что, в свою очередь, отрицательно сказывается на качестве вод и санитарном состоянии водоема.

- Работа выполнена в рамках госзадания ИО РАН (тема FMWE-2021-0007).
- Александров С.В., Горбунова Ю.А. (2012): Продукция фитопланктона и содержание хлорофилла в эстуариях различного типа // Вестник Балтийского федерального университета им. И. Канта. №. 1. С. 90.
- Александров С.В., Дмитриева О.А. (2006): Первичная продукция и показатели фитопланктона как критерии эвтрофирования Куршского залива Балтийского моря // Водные ресурсы. Т. 33, № 1. С. 104.
- Ежова Е.Е., Ланге Е.К., Русских Я.В. и др. (2012): Вредоносные цветения микроводорослей в Куршском заливе Балтийского моря в 2008-2011 гг. // Проблемы изучения и охраны природного и культурного наследия национального парка "Куршская коса": сб. науч. ст. Калининград: Издательство БФУ им. И. Канта. Вып. 8. С. 81-95.
- Ланге Е.К. (2013): Фитопланктонный комплекс российской части Куршского залива (2001-2007 гг.) // Известия КГТУ. Калиниград: КГТУ. № 28. С. 87-94.
- Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологических исследований / под ред. А.С. Лабинской, Л.П. Блинковой, А.С. Ещиной. М.: Медицина, 2004.
- Определитель бактерий Берджи / Под ред. Дж. Хоулта. М.: Мир, 1997.—Т. I. 432 с.
- Цыбалева Г.А., Кузьмин С.Ю., Казимирченко О.В. (2016): Гидробиологическая и микробиологическая характеристика западной прибрежной зоны Куршского залива в 2014 году // Проблемы изучения и охраны природного и культурного наследия национального парка «Куршская коса». Вып. 12. Калининград: БФУ им. И. Канта. С. 138.
- Aleksandrov S., Krek A., Bubnova E. et al. (2018): Eutrophication and effects of algal bloom in the southwestern part of the Curonian Lagoon alongside the Curonian spit // Baltica. V. 31. № 1. P. 1. https://doi.org/10.5200/baltica.2018.31.01
- Sulcius S., Pilkaitytė R., Mazur-Marzec H. et al. (2015): Increased risk of exposure to microcystins in the scum of the filamentous cyanobacterium Aphanizomenon flos-aquae accumulated on the western shoreline of the Curonian Lagoon // Marine Pollution Bulletin. V. 99. № 1–2. P. 264. https://doi.org//10.1016/j. marpolbul.2015.07.057.

#### А.Д. Темралеева

### МЕТАГЕНОМНОЕ И ПОЛНОГЕНОМНОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ ЦИАНОБАКТЕРИЙ НАЗЕМНЫХ ЭКОСИСТЕМ

A.D. Temraleeva

### METAGENOMIC AND WHOLE GENOME SEQUENCING OF CYANOBACTERIA FROM TERRESTRIAL ECOSYSTEMS

Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пущино, Россия, temraleeva.anna@gmail.com

Цианобактерии (Cyanobacteriota/Cyanophytes/Cyanoprokaryotes) являются разнообразной группой оксигенных фототрофных прокариот, обладающих уникальной физиологией, широкой экологической валентностью и пластичностью. Это позволяет им развиваться в различных экологических местообитаниях, в том числе и экстремальных: пустынях, термальных источниках, гиперсоленых и щелочных водоемах, вулканических субстратах и пр. (Seckbach, 2007). Развитие геномики цианобактерий происходит медленнее, чем многих других групп бактерий, а, следовательно, доступность цианобактериальных геномных последовательностей все еще относительно низка (Alvarenga et al., 2017). В 1996 г. штамм Synechocystis sp. РСС 6803 стал первым штаммом цианобактерии с опубликованным геномом (Kaneko et al., 1996). В 2023 году в генетической базе данных NCBI доступно 3925 геномов цианобактерий, в то время как для других групп бактерий опубликовано свыше 1.5 млн. геномов. Причем более 1.5 тыс. цианобактериальных геномов принадлежат родам Prochlorococcus и Synechococcus, которые являются типичными обитателями водных экосистем. Таким образом, текущий общедоступный набор данных о геномах цианобактерий имеет недостаточный таксономический, биогеографический и экологический охват. Увеличение геномных исследований цианобактериальных таксонов позволит не только расширить наши знания о молекулярной генетике филума, но и изучить их эволюционное и метаболическое разнообразие, адаптационный потенциал и взаимосвязи в ассоциациях с другими организмами.

Ассоциации цианобактерий с эукариотами наиболее изучены (лишайники, саговники, папоротники, губки и др.), в то время как взаимодействие и коэволюция с бактериальными и архейными симбионтами, которое происходило в течение миллиардов лет, существенно меньше.

Из-за этих ассоциаций получение аксеничных штаммов цианобактерий затруднено, и большинство усилий по очистке смешанных культур приводят к получению только альгологически чистых культур, содержащих ряд ассоциированных микроорганизмов, которые представляют собой микробный консорциум. Наборы данных высокопроизводительного секвенирования неаксеничных цианобактериальных культур очень похожи на метагеномные данные, полученные из микробных консорциумов, что предоставляет исследователю доступ к геномам симбиотических микроорганизмов. Метагеномные подходы эффективны для изучения состава, структуры, метаболизма естественных и искусственных микробных сообществ, позволяя получать драфтгеномы или даже полные микробные геномы из смешанной выборки. Метагеномная сборка более эффективна в условиях меньшего богатства и дальнего родства, чем обычно и характеризуются неаксеничные культуры цианобактерий.

В данной работе мы изучили штамм нитчатой цианобактерии ACSSI 383, изолированной с поверхности бетонных ступенек (Пущино, Московская обл.). 16S рРНК-анализ установил положение данного штамма внутри недавно описанного рода *Cymatolege* (Konstantinou et al., 2020) с независимым филогенетическим положением. Интересно, что два описанных вида *C. spiroidea* и C. isodiametrica были обнаружены в морских местообитаниях в ассоциациях с губками и имели ярко розовую окраску. Изучаемый штамм имел грязно-оливковый цвет с красноватым оттенком. Впервые для представителей рода нами был секвенирован и аннотирован драфт-геном с полнотой сборки 99.2%. Драфт-геном штамма Cymatolege sp. ACSSI 383 удалось собрать в 120 контигов со средним покрытием 199.06 и общим размером 4495438 п.н. Г+Ц состав, рассчитанный на основании геномной последовательности, составил 50.8%. Кроме того, был собран драфт-геном бактерии спутника ACSSI 383 — актиномицета рода Microbacterium. В результате биннинга в метагеномных данных также было обнаружено небольшое количество нуклеотидных последовательностей еще двух бактерий. В процессе аннотации и анализа генома ACSSI 383 были определены 4463 белок-кодирующих последовательностей, из них только 924 с известными функциями. В геноме кодируется 43 РНК. Наибольшее количество генов (163 гена) в исследуемом драфтгеноме соответствует подсистеме «Углеводы», 151 ген — подсистеме «Белковый метаболизм», 136 генов — подсистеме «Аминокислоты и их производные» и 135 генов — подсистеме «Кофакторы, витамины, простетические группы, пигменты». Также были обнаружены гены, ответственные за синтез белков теплового шока, аллофикоцианинов и фикоэритринов, цианотоксина микроцистина и экзотоксина гемолизина, антибиотиков (окситетрациклина, бациллаена, виргиниамицина), сидерофоров, ферментов, способствующих разложению неорганических полифосфатов, а также гены, ответственные за устойчивость к цинку, кадмию, свинцу, ртути и мышьяку. Полученные данные позволяют предположить биотехнологическую перспективность дальнейшего изучения штамма Cymatolege sp. ACSSI 383.

- Alvarenga, D.O, Fiore, M.F. & Varani, A.M. (2017): A Metagenomic Approach to Cyanobacterial Genomics. Front. Microbiol. 8: 809. doi: 10.3389/fmicb.2017.00809
- Kaneko, T., Sato, S., Kotani, H., Tanaka, A., Asamizu, E., Nakamura, Y., et al. (1996): Sequence analysis of the genome of the unicellular cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC6803. II. Sequence determination of the entire genome and assignment of potential protein-coding regions. DNA Res. 3: 109–136. doi: 10.1093/dnares/3.3.109
- Konstantinou, D., Voultsiadou, E., Panteris, E. & Gkelis, S. (2020): Revealing new sponge-associated cyanobacterial diversity: novel genera and species. — Mol. Phyl. Evol. 155. https://doi.org/10.1016/j. ympev.2020.106991
- Seckbach, J. (2007): Algae and Cyanobacteria in extreme environments // Cellular Origin, Life in Extreme Habitats and Astrobiology / Eds. Seckbach J. New York: Springer Science, Business Media, V. 11. P. 1–811.

И.В. Тихонова<sup>1</sup>, А.П. Федотов<sup>1</sup>, А.Ю. Краснопеев<sup>1</sup>, С. Ли<sup>3</sup>, С.А. Потапов<sup>1</sup>, Е.Г. Сороковикова<sup>1</sup>, М.Р. Кабилов<sup>2</sup>, А.В. Ломакина<sup>1</sup>, О.И.Белых<sup>1</sup>

### ЦВЕТЕНИЯ ТОКСИЧНЫХ ЦИАНОБАКТЕРИЙ В ОЗЕРЕ БАЙКАЛ В ПРОШЛОМ И НАСТОЯЩЕМ

I.V. Tikhonova<sup>1</sup>, A.P. Fedotov<sup>1</sup>, A.Yu. Krasnopeev<sup>1</sup>, X. Li<sup>3</sup>, S.A. Potapov<sup>1</sup>, E.G. Sorokovikova<sup>1</sup>, M.R. Kabilov<sup>2</sup>, A.V.Lomakina <sup>1</sup>, O.I. Belykh<sup>1</sup>

# PRESENT AND PAST MICROCYSTIN-PRODUCING CYANOBACTERIA BLOOMS IN LAKE BAIKAL

<sup>1</sup>Лимнологический институт Сибирского Отделения Российской Академии наук, Иркутск, Россия, info@lin.irk.ru

<sup>2</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия kabilov@niboch.nsc.ru <sup>3</sup>Институт городской среды, Китайская Академия наук, Китай, mrchen@iue.ac.cn

Считается, что вредоносные цианобактериальные цветения воды тесно связаны с изменением климата (Griffith, Gobler, 2020). Для озера Байкал ранее приводились данные о массовом развитии новых родов и видов бентосных цианобактерий (Belykh et al., 2020, Sorokovikova et al., 2020). Пикопланктонные рода Synechococcus и Cyanobium являются обязательным компонентом водной толщи озера Байкал, а появление нанопланктонных нитчатых форм в большом количестве является неблагоприятным признаком. Существенным фактором, влияющим на экосистему, кроме климатического, считается хозяйственная деятельность человека на берегах Байкала (Timoshkin et al., 2018, Brown et al., 2021, Tikhonova et al., 2023). Сток воды с поверхности может приводить к повышению концентрации биогенов, стимулируя развитие цианобактерий. Для понимания того, как происходит смена цианобактериальных сообществ, очень полезен ретроградный анализ, поскольку процессы, происходящие в планктоне, тесно связаны с осадконакоплением. Донные отложения озер образуются из осевших минеральных и органических частиц и из микроорганизмов, участвующих в деструкции органики. Ностоковые цианобактерии способны образовывать покоящиеся стадии с плотными оболочками — акинеты, хорошо сохраняющиеся в осадках. Отбор проб планктона и осадочного керна был проведен в июле и августе 2019 года с НИС «Папанин» и «Титов». Были исследованы планктон и осадки залива Мухор, а также планктон заливов Турка, Посольский сор и прибрежья пос. Б.Коты. Для выделения ДНК отбирали осадки от поверхностного слоя до 20 см, и древний слой 35-36 см (всего 12 образцов). Выделение ДНК, ПЦР, секвенирование и обработку данных проводили согласно (Galachyants et al., 2021). Для амплификации 16S ДНК цианобактерий использовали праймеры CYA359F/CYA781R (Nubel et al., 1997), для фрагмента микроцистинсинтетазы — hepF/hepR (Jungbut and Neilan, 2006).

Все образцы продемонстрировали положительный ПЦР-сигнал на присутствие циано-ДНК. В комбинациии с праймерами к микроцистинсинтетазе показано, что в планктоне прибрежья пос. Б.Коты, Турка и в заливе Мухор в настоящее время развиваются микроцистин-продуцирующие цианобактерии. В июле 2019 года в заливе Мухор наблюдалось интенсивное цветение Dolichospermum (Anabaena) и Microcystis, содержащих гены синтеза микроцистина. В прибрежной зоне поселков Б.Коты и Турка видовой состав сообщества цианобактерий отличался от залива Мухор отсутствием Microcystis (Большие Коты) и присутствием значительного количества бентосных цианобактерий (Турка). В Посольском соре не был выявлен маркерный ген синтеза гепатотоксинов, несмотря на регулярные цветения, вызванные Gloeotrichia echinulata. В осадках микроцистин-продуцирующие Dolichospermum spp. представлены практически непрерывно до 16 см, а с 15 см и глубже ген синтеза микроцистина принадлежит Microcystis spp. Считается, что повышенная температура и высокое содержание азота и фосфора приводят к доминированию токсичных Microcystis spp. (Paerl et al., 2017). Появление продуцентов микроцистина, принадлежащих роду Dolichospermum характерно для олиготрофных водоемов с более низкими температурами воды (Capelli et al., 2017). Таким образом, ДНК цианобактерий сохраняется в осадках озера Байкал, праймеры к участку гена микроцистинсинтетазы могут быть успешно использованы для летописи цветения токсичных цианобактерий. Полученные

данные позволяют предполагать, что периоды интенсивного цветения цианобактерий были в озере Байкал и ранее и эти события не связаны с антропогенной нагрузкой.

- Финансирование работы осуществлялось за счет бюджетного проекта № 0279-2021-0015, а также за счет проекта РФФИ 17-29-05016.
- Белых О.И., Тихонова И.В., Кузьмин А.В., Сороковикова Е.Г., Потапов С.А., Галкин А.В., Федорова Г.А. (2020): Токсин-продуцирующие цианобактерии в озере Байкал и водоёмах Байкальского региона (обзор).—Теоретические проблемы экологии 1: 21–27.
- Brown K.P., Gerber A., Bedulina D., Timofeyev M.A. (2021): Human impact and ecosystemic health at Lake Baikal.—WIREs Water 8: e1528.
- Paerl H.W. (2017): Controlling cyanobacterial harmful blooms in freshwater ecosystems.—Microb Biotechnol. 10: 1106–1110.
- Nübel U., Garcia-Pichel F., Muyzer G. (1997): PCR primers to amplify 16S rRNA genes from cyanobacteria.— Applied and Environmental Microbiology 63: 3327–3332.
- Sorokovikova E., Belykh O., Krasnopeev A., Potapov S., Tikhonova I., Khanaev I., Kabilov M., Baturina O., Podlesnaya G., Timoshkin O. (2020): First data on cyanobacterial biodiversity in benthic biofilms during mass mortality of endemic sponges in Lake Baikal.—Journal of Great Lakes Research 46(1):75-84.
- Timoshkin O.A., Moore M.V., Kulikova N.N., Tomberg I.V., Malnik V.V., Shimaraev M.N., Troitskaya E.S., Shirokaya A.A., Sinyukovich V.N., Zaitseva E.P., Domysheva V.M., Yamamuro M., Poberezhnaya A.E., Timoshkina E.M. (2018): Groundwater contamination by sewage causes benthic algal outbreaks in the littoral zone of Lake Baikal.—Journal of Great Lakes Research 44 (2): 230-244.
- Tikhonova I., Kuzmin A., Fedorova G., Sorokovikova E., Krasnopeev A., Tsvetkova A., Shtykova Y., Potapov S., Ivacheva M., Zabortzeva T., Evstropyeva O., Tomberg I., Zhuchenko N., Galachyants A., Belykh O. (2023): Toxic cyanobacteria blooms of Mukhor Bay (Lake Baikal, Russia) during a period of intensive anthropogenic pressure.—Aquatic Ecosystem Health & Management 4(25): 85-97.
- Galachyants A.D., Krasnopeev A.Y., Podlesnaya G.V., Potapov S.A., Sukhanova E.V., Tikhonova I.V., Zimens E.A., Kabilov M.R., Zhuchenko N.A., Gorshkova A.S., Suslova M.Y., Belykh O.I. (2021): Diversity of aerobic anoxygenic phototrophs and rhodopsin-containing bacteria in the surface microlayer, water column and epilithic biofilms of Lake Baikal.—Microorganisms 9(4): 842 p.
- Jungblut A.D., Neilan B.A. (2006): Molecular identification and evolution of the cyclic peptide hepatotoxins, microcystin and nodularin, synthetase genes in three orders of cyanobacteria. Archives of Microbiology 185(2): 107-114.
- Griffith A.W., Gobler G.J. (2020): Harmful algal blooms: a climate change co-stressor in marine and freshwater ecosystems.—Harmful Algae 91: 101590.
- Capelli C., Ballot A., Cerasino L., Papini A., Salmaso N. (2017): Biogeography of bloom-forming microcystin producing and non-toxigenic populations of Dolichospermum lemmermannii (Cyanobacteria).—Harmful Algae 67: 1-12.

Е.М. Шарагина<sup>1</sup>, Е.Л. Воденеева<sup>1</sup>, П.В. Кулизин<sup>1</sup>, Н.А. Старцева<sup>1</sup>, Д.А. Журова<sup>1,2</sup>, А.Г. Охапкин<sup>1</sup>

### СИНЕЗЕЛЕНЫЕ ВОДОРОСЛИ КАК КОМПОНЕНТ АЛЬГОЦЕНОЗОВ УНИКАЛЬНЫХ КАРСТОВЫХ ОЗЕР НИЖЕГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ

E.M. Sharagina<sup>1</sup>, E.L. Vodeneeva<sup>1</sup>, P.V. Kulizin<sup>1</sup>, N.A. Startseva<sup>1</sup>, D.A. Zhurova<sup>1,2</sup>, A.G. Okhapkin<sup>1</sup>.

### BLUE-GREEN ALGAE AS A COMPONENT OF ALGOCENOSES OF UNIQUE KARST LAKES IN THE NIZHNY NOVGOROD REGION

<sup>1</sup>Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия, ajugareptans@mail.ru

<sup>2</sup>Нижегородский филиал федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии», Нижний Новгород, Россия

Проанализированы состав и динамика развития цианопрокариот трех уникальных карстовых озер Нижегородской области, располагающихся в бассейне Чебоксарского водохранилища — Ключик, Светлояр и Святое Дедовское. Озеро Ключик относится к естественным озерам Приокско-Волжского природного района, уникальность его состоит в источнике питания (в питании озера принимает участие подземная река Суринь, расход которой составляет до 2200 л/сек) и наличии четкого экотона по гидрохимическому градиенту: воды западной части акватории озера относятся к группе сульфатных, а восточной — гидрокарбонатных. Представляет собой озеро-воклину или гидрогеологическое окно (Okhapkin et al., 2022). Озеро Светлояр располагается в Ветлужско-Устанском районе Нижегородского Заволжья, характеризуется большими глубинами (максимальная — 33,4 м) и высокой прозрачностью. Происхождение озера дискуссионно:

обсуждается ледниковое, вулканическое, карстовое, аллювиальное, тектоническое и метеоритное (Охапкин и др., 2022). Является местом паломничества и известным туристическим объектом. Озеро Святое Дедовское является самым крупным карстовым озером в Нижегородской области, находится в низинной части Окско-Тешинского природного района, уникальным является благодаря произрастанию на нем реликта ледниковой эпохи — полушника озерного (Баканина и др., 2001).

Исследованные озера при относительно небольшой площади водного зеркала характеризовались достаточно большими глубинами (средняя глубина составляла более 8 м, а максимальная — более 20 м). Данный факт также придает изученным озерам черты уникальности по сравнению с прочими типичными водоемами лесной зоны. Все озера содержат небольшое количество взвешенных веществ и характеризуются невысокой цветностью, являются памятниками природы различного уровня.

Исследования фитопланктона проводили в период 2019-2021 гг., пробы отбирались ежемесячно в течение вегетационного периода не менее чем с трех станций (в зависимости от морфометрических характеристик и наличия биотопически разнородных участков количество станций возрастало) на каждом озере. Также были использованы архивные данные. Сбор и обработка материала производились общепринятыми в гидробиологии методами (Методика..., 1975). Ревизия списка видов с учетом последних данных их систематического положения осуществлялась с помощью базы данных Algaebase (Guiry, Guiry, 2023).

Цианопрокариоты в составе общего видового списка исследованных озер были представлены 60 видами, разновидностями и формами, а также водорослями, определенными до рода; они составляли 15% от всех обнаруженных видов, значительно уступая диатомеям и зеленым водорослям. Обнаруженные синезеленые водоросли принадлежали 1 классу, 5 порядкам, 12 семействам и 25 родам. Наиболее обширно были представлены представители порядка безгетероцитных цианопрокариот Synechococcales (38 видовых и внутривидовых таксонов), в частности водоросли рода Aphanocapsa Nägeli. Наибольшее разнообразие цианобактерий выявлено в озере Светлояр с высоким уровнем минерализации (38 в. и в.в.т.), наименьшее — в низкоминерализованном озере Святое Дедовское (22 в. и в.в.т.). В озере Ключик видовой состав цианопрокариот составил 34 в. и в.в.т. Лишь 6 видов оказались общими для видовых списков озер — Chroococcus minor (Kützing) Nägeli, Microcystis aeruginosa (Kützing) Kützing, Aphanocapsa incerta (Lemmermann) G.Cronberg & Komárek, Aphanocapsa delicatissima West & G.S.West, Limnothrix planctonica (Woloszynska), Anathece clathrata (West & G.S.West) Komárek, Kastovsky & Jezberová, а сравнительный анализ видового состава водорослей по коэффициенту Сёренсена продемонстрировал статистически значимую низкую степень сходства флористических списков (менее 14%), что говорит об уникальности альгофлоры каждого из озер.

В оз. Ключик представители цианопрокариот в течение всего периода наблюдений не входили в список структурообразующих видов ни по численности, ни по биомассе. Несмотря на высокие значения минерализации, развитие и «цветение» цианобактерий ограничивались низкими температурами и отсутствием (в западной части водоема), либо слабо выраженной стратификации (в восточной части). Цианобактерии, обнаруженные в планктоне, представлены мелкими коккоидными и нитчатыми формами (Aphanocapsa spp., Pseudanabaena spp.), но их показатели были незначительными. В озере Светлояр отмечается возрастание роли цианопрокариот после аномально жаркого 2010 года с антициклональным типом погоды. В 2010 году наблюдалось интенсивное (более 30 г/м³) летнее и осеннее «цветение» диазотрофной цианопрокариоты Dolichospermum circinale (Rabenhorst ex Bornet & Flahault) P.Wacklin, L.Hoffmann & J.Komárek, уже в 2011 году столь ярких вспышек «цветения» не наблюдалось, однако в целом отмечено возрастание величин численности и биомассы на один-два порядка в сравнении с более ранними годами. Отмеченные негативные изменения состава и структуры фитопланктона озера являются основанием для ужесточения мероприятий по организации и ограничению туризма и паломничества на его водосборе и проведения дополнительных водоохранных мероприятий, которые позволят сохранить уникальный природный комплекс. В современный период (2020 г.) формирующиеся в планктоне озера ценотические комплексы по численности фитопланктона представлены мелкоклеточными синезелеными коккоидными водорослями: *Aphanocapsa* spp. — *Aphanothece* spp. — *Snowella* spp. наравне с представителями зеленых водорослей Dactylosphaerium spp. и Dictyosphaerium spp. В озере Святое Дедовское

по биомассе синезеленые водоросли не доминировали, однако отмечается постоянное присутствие цианопрокариот в составе доминант по численности. В 2020 году на долю мелкоклеточных синезеленых (*Chroococcus minimus* (Keissler) Lemmermann и *Anathece clathrata*) приходилось в среднем 67,67%, в 2021 году данный показатель увеличился до 84,10%.

Таким образом, в современный период исследования отмечается усиление роли цианопрокариот как в составе флористических списков, так и в составе структурообразующих видов в исследуемых водоемах, в сравнении с началом XXI века. Данный факт свидетельствует о важности усиления водоохранных мероприятий и ограничении рекреационного использования озер.

- Баканина Ф.М., Воротников В.П., Лукина Е.В., Фридман Б.И. (2001): Озера Нижегородской области. Н.Новгород: Издание ВООП. 165 с.
- Охапкин А.Г., Воденеева Е.Л., Шарагина Е.М., Кулизин П.В. (2022): Состав и структура фитопланктона оз. Светлояр. Биология внутренних вод 5: 480—492. Методика изучения биогеоценозов внутренних водоемов (1975): М.: Наука. —. 239 с.
- Guiry M.D, Guiry G.M. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <a href="http://www.algaebase.org">http://www.algaebase.org</a>. (дата обращения: 24.04.2023)
- Okhapkin, A., Sharagina, E., Kulizin, P., Startseva, N., & Vodeneeva, E. (2022). Phytoplankton community structure in highly-mineralized small gypsum karst lake (Russia). *Microorganisms 10*(2): 386.

К.А. Эйхвальд<sup>1,2</sup>, О.П. Баженова<sup>1</sup>

# ПЕРВЫЕ СВЕДЕНИЯ О ЦИАНОПРОКАРИОТАХ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ НАЦИОНАЛЬНОГО ПАРКА "КРАСНОЯРСКИЕ СТОЛБЫ"

K.A. Eichvald<sup>1,2</sup>, O.P. Bazhenova<sup>1</sup>

### THE FIRST INFORMATION ABOUT CYANOPROKARYOTES OF WATER BODIES NATIONAL PARK KRASNOYARSK PILLARS

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Омский государственный аграрный университет имени П.А.Столыпина», Омск, Россия, ka.eykhvald@omgau.org

<sup>2</sup>Национальный парк «Красноярские столбы», Красноярск, Россия, nau-stolby@yandex.ru

Национальный парк Красноярские столбы (далее НП) находится в пригороде Красноярска и имеет особое природоохранное, эстетическое и рекреационное значение как для Красноярского края, так и для всей России. Территория НП расположена на северо-западных отрогах Восточного Саяна, граничащих со Средне-Сибирским плоскогорьем.

Территория парка имеет хорошо развитую гидрографическую сеть (0,63 км/км²) общей протяженностью более 300 км. Она группируется в четыре различных по площади водосборных речных бассейна — Маны (135,1 км²), Базаихи (259,2 км²), Большой Слизневой (56,7 км²) и собственно Енисея (21,3 км²) (Наблюдение процессов и явлений..., 2020).

Изучение фитопланктона в реках и ручьях НП до 2021 г. не проводилось. Проведенные нами работы позволят оценить видовое богатство и структуру фитопланктона и в перспективе послужат основой для биомониторинга водных экосистем НП (Эйхвальд, Баженова, 2022).

Материалами для сообщения послужили данные обработки планктонных проб, отобранных в период открытой воды 2021–2022 гг. на следующих водных объектах: реки Мана, Базаиха, Большая Слизнева и Калтат, ручьи Большой, Средний и Малый Индей, Берлы, Кривопохвальный, Маслянка, Веселый, Большой Инжул, Сынжул и Лалетина. Пробы отбирали зачерпыванием из поверхностного слоя воды, фиксировали 40 % формалином с добавлением раствора Люголя, концентрировали осадочным способом, обрабатывали общепринятыми методами на световом микроскопе Euler Professor 770Т.

Систематика водорослей приведена в соответствии с базой данных интернет-ресурсов Algaebase (Guiry, Guiry, 2023). Сведения об эколого-географической характеристике видов взяты из определителей и других работ (Белякова, 2004, 2006; Баринова и др., 2019; Komárek, Anagnostidis, 1998).

Цианопрокариоты в водных объектах НП представлены небольшим числом видов. Всего в фитопланктоне было идентифицировано 95 видовых и внутривидовых таксонов, включая

номенклатурный тип вида, из них к цианопрокариотам относится 7 видов (7,4 % от общего числа ВВТ) — Aphanocapsa holsatica (Lemmermann) Cronberg et Komarek, A. incerta (Lemmermann) Cronberg et Komarek, Chroococcus minimus (Keissler) Lemmermann, Cyanothece aeruginosa (Nägeli) Komarek, Merismopedia tranquilla (Ehrenberg) Trevisan, Pleurocapsa minor Hansgirg, Synechocystis aquatilis Sauvageau, Spirulina major Kützing ex Gomont. Ниже приводим их краткую характеристику с указанием местонахождения и встречаемости.

*Aphanocapsa holsatica* — планктонно-бентосный, пресноводно-солоноватоводный вид. Алкалифил, космополит. Вид был найден во всех исследованных водных объектах НП, максимальная численность (3,2 млн кл./л) отмечена в августе 2022 г. в р. Мана.

*Aphanocapsa incerta* — планктонный, пресноводно-солоноватоводный вид. Алкалифил, космополит. Вид был найден во всех исследованных водных объектах, максимальная численность (8,5 млн кл./л) отмечена осенью в руч. Кривопохвальный.

Chroococcus minimus — планктонно-бентосный, широко распространенный в умеренной зоне северного полушария пресноводный вид, индифферент по отношению к рН, космополит. На территории России был найден в разнообразных местообитаниях: реках и озерах Омского Прииртышья (Фитопланктон Омского Прииртышья, 2019), малых реках Самарской области (Тарасова и др., 2011), зональных и горных тундрах Мурманской области (Давыдов, 2014), Невской губе Финского залива (Горин и др., 2016) и др. Единично в р. Мана летом 2022 г.

Cyanothece aeruginosa — пресноводный вид, обитает в прозрачных холодных водах, на возвышенностях, влажных камнях и болотах. Вероятно космополитный вид, обитающий как в умеренной, так и в приполярной зонах. Единично в руч. Лалетина весной 2022 г.

Merismopedia tranquilla — планктонно-бентосный, пресноводно-солоноватоводный вид. Индифферент по отношению к рН. Космополит, но более широко распространен в тропических и более теплых районах. Единично в руч. Большой Индей летом 2021 г.

Pleurocapsa minor — бентосный вид, являющийся типичным обитателем горных ручьев и рек. Вид найден в р. Мана, ручьях Большой и Средний Индей, Большой Инжул и Веселый. Наибольшую численность (3,5 млн кл./л) формировал в р. Мана.

Synechocystis aquatilis — планктонно-бентосный, пресноводно-солоноватоводный вид, алкалифил, космополит. Обитает обычно в водоемах слегка загрязненных или с относительно высоким содержанием питательных веществ. Единично в руч. Лалетина в августе 2022 г.

Spirulina major — планктонно-бентосный, почвенный, пресноводно-солоноватоводный вид, алкалифил, космополит. Обитает в пресных и соленых водоемах, а также в горячих водах. Единично в р. Мана летом 2022 г.

Исследования проводились в рамках выполнения темы НИР «Изучение естественного хода процессов и явлений в природном комплексе национального парка "Красноярские столбы" с целью выявления многолетней динамики экосистем и сохранения природной среды», номер госрегистрации 1-22-106-1.

- Баринова С.С., Белоус Е.П., Царенко П.М. (2019): Альгоиндикация водных объектов Украины: методы и перспективы. Хайфа, Киев: Изд–во Университета Хайфы. 367 с.
- Белякова Р.Н. (2004): Виды родов Aphanocapsa и Microcystis (Cyanoprokaryota), вызывающие «цветение» водоемов Северо-Запада России. *Новости систематики низших растений, 37:* 8–21.
- Белякова Р.Н., Волошко Л.Н., Гаврилова О.В. (2006): Водоросли, вызывающие «цветение» водоемов Северо-Запада России. М.: Товарищество науч. изд. КМК. 367 с.
- Давыдов Д.А. (2014): Цианопрокариоты зональных и горных тундр Мурманской области. *Труды Карельского научного центра РАН, (2)*: 66–76.
- Горин К.К., Никитина В.Н., Белякова Р.Н. (2016): Структурные показатели цианопрокариот некоторых прибрежных биотопов Невской губы Финского залива Балтийского моря. *Труды Кольского научного центра РАН (7–4(41)):* 58–71.
- Наблюдение процессов и явлений в природном комплексе заповедника «Столбы» и их изучение по программе «Летопись природы». Книга 77. (2020). Красноярск. 244 с.
- Тарасова Н.Г., Буркова Т.Н., Трохимец О.О. (2011): Сезонная динамика фитопланктона и экология доминирующих видов водорослей в прудах с различной степенью антропогенной нагрузки. Известия Самарского научного центра РАН 13(1-5): 230–235.
- Фитопланктон Омского Прииртышья (2019): О.П. Баженова и др.; под общей ред. О.П. Баженовой. Омск: Изд-во ФГБОУ ВО Омский ГАУ. 320 с.

- Эйхвальд К.А., Баженова О.П. (2022): Первые сведения о фитопланктоне некоторых водных объектов национального парка «Красноярские столбы». Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии 21(1): 200–204.
- Guiry M.D., Guiry G.M. (2023): AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. URL: https://www.algaebase.org/ (Accessed 05 May 2023).
- Komárek J., Anagnostidis K. (1998): Cyanoprokaryota. 1 Teil: Chroococcales. Süßwasserflora von Mitteleuropa. Bd. 19/1. Berlin: Spektrum Akademischer Verlag. 523 s.

#### Н.Н. Макарёнкова

# СОСТАВ И СТРУКТУРА ЦИАНОБАКТЕРИАЛЬНОГО КОМПЛЕКСА ВО ВРЕМЯ «ЦВЕТЕНИЯ» НА БЕЛОМ ОЗЕРЕ (ВОЛОГОДСКАЯ ОБЛАСТЬ)

#### N.N. Makarenkova

# COMPOSITION AND STRUCTURE OF THE CYANOBACTERIAL COMPLEX DURING THE "BLOOM" ON LAKE BELOE (VOLOGDA REGION)

Вологодский филиал федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии» («ВологодНИРО»), Вологда, Россия, mackarenckowa@yandex.ru

Белое озеро находится на западе Вологодской области и принадлежит к бассейну верхней Волги. Оно относится к наиболее крупным озерам Европы (площадь составляет 1284 км $^2$ , объем водной массы — 5,25 км $^3$ ), входит в состав Шекснинского водохранилища. Озеро имеет округлую форму котловины, для него характерны небольшие глубины (средняя глубина 4,1 м), при этом заросли макрофитов занимают незначительную его часть.

Во второй половине лета в Белом озере отмечается массовое развитие основных групп фитопланктона (диатомовых, зеленых, цианобактерий), соответствующее второму пику в сезонной динамике численности и биомассы. В это время в структуре альгоценоза озера значительно увеличивается роль цианобактерий, и наблюдается «цветение» воды. Данное явление в рамках мониторинга регистрируется сотрудниками «ВологодНИРО» в озере Белом и в речной части Шекснинского водохранилища в августе — сентябре (Макарёнкова, 2018).

В 2010–2022 гг. в таксономической структуре фитопланктона Белого озера цианобактерии составляли около 21%. Были встречены виды из родов Anabaena Bory ex Born. et Flah., Aphanizomenon Morr. ex Born. et Flah., Aphanocapsa Näg., Chroococcus Näg., Cuspidothrix Rajan. et al., Cyanodictyon Pascher, Dolichospermum (Ralfs ex Born. et Flah.) Wacklin, Hoffmann et Kom., Merismopedia Meyen, Microcystis Kütz. ex Lemm., Oscillatoria Vauch. ex Gom., Phormidium Kütz. ex Gom., Planktolyngbya Anagn. et Kom., Pseudanabaena Lauterb., Snowella Elenk., Woronichinia Elenk. Из них по количеству видов преобладали Aphanocapsa (23%) и Microcystis (11%). Основное количество обнаруженных видов относилось к порядку Chroococcales (64%). Соотношение безгетероцистных и гетероцистных видов составляло 3,8. По частоте встречаемости выделялись Aphanizomenon flos-aquae Ralfs ex Born. et Flah., Aphanocapsa incerta (Lemm.) Cronb. et Kom., Snowella lacustris (Chod.) Kom. et Hind., Woronichinia compacta (Lemm.) Kom. et Hind., Chroococcus sp., Aphanocapsa conferta (W. et G.S.West) Kom.-Legn. et Cronb., A. holsatica (Lemm.) Cronb. et Kom., Dolichospermum sp., D. lemmermannii (Richt.) Wacklin et al., Aphanocapsa delicatissima W. et G.S.West, Planktolyngbya limnetica (Lemm.) Kom.-Legn. et Cronb., Microcystis aeruginosa (Kütz.) Kütz., M. wesenbergii (Kom.) Kom.ex Kom.

В конце лета доля цианобактерий в общей численности фитопланктона достигала в среднем  $75\pm9,1\%$ , в общей биомассе —  $31\pm7,0\%$ , при этом доля *Aphanizomenon flos-aquae* равнялась  $58\pm9,4\%$  и  $30\pm6,8\%$  соответственно. К основным доминантам также относились *Aphanocapsa delicatissima*, *A. holsatica*, *A. incerta*, *Microcystis aeruginosa*, *Snowella lacustris*, *Dolichospermum* sp. В озере Белом на значительной части акватории формировался линейный вид поля «цветения» воды. Средние величины численности и биомассы фитопланктона в летний период в течение 2010-2022 гг. равнялись  $92\pm27,5$  млн кл./л и  $16\pm4,3$  г/м³. Максимальное количество цианобактерий было зафиксировано в 2022 г. (до 214 млн кл./л и 14 г/м³).

«Цветение» воды в Белом озере обнаруживалось ещё до создания Шекснинского водохранилища, в целом фитопланктон характеризовался преобладанием диатомовых водорослей

и цианобактерий. Общая биомасса цианобактерий в это время равнялась 0,4-0,8 г/м<sup>3</sup>. Руководящим таксоном был Aphanizomenon, ему сопутствовали Dolichospermum flos-aquae (Born. et Flah.) Wacklin et al. (=Anabaena flos-aquae Bréb. ex Born. et Flah.), Snowella lacustris (=Gomphosphaeria lacustris Chod.), Woronichinia naegeliana (Ung.) Elenk., Anathece clathrata (W. et G.S.West) Kom. et al. (=Aphanothece clathrata W. et G.S.West) Microcystis aeruginosa и др. (Гусева, 1959). В первый год наполнения Шекснинского водохранилища условия обитания цианобактерий были неблагоприятными, их биомасса во второй половине лета была менее 0,1 г/м³, «цветение» воды не наблюдалось. В последующие годы количество цианобактерий значительно возросло (Кузьмин, 1976). В 70-х гг. цианобактериальный комплекс во второй половине лета складывался прежде всего из Snowella lacustris (=Gomphosphaeria lacustris), Dolichospermum lemmermannii (=Anabaena lemmermannii P.Richt), Aphanizomenon flos-aquae, Microcystis aeruginosa, Woronichinia naegeliana. Aphanizomenon flos-aquae являлся преобладающей формой среди цианобактерий вплоть до замерзания озера (Пырина и др., 1981). В 90-е гг. в структуре сообщества большее значение приобрели безгетероцистные цианобактерии (Aphanocapsa holsatica, A. incerta и др.) (Корнева, 2002). Согласно фондовым материалам в июле 2005 г., августе-октябре 2007 г. и на ряде станций в сентябре 2008 г. в поверхностном слое воды наблюдалось скопление крупных нитей цианобактерий, преимущественно Aphanizomenon flos-aquae, а также представителей рода Anabaena. Биомасса цианобактерий составляла более половины от общей и достигала 12 г/м<sup>3</sup>. Также высокую численность имели Snowella lacustris, виды из родов Aphanocapsa и Microcystis.

В Белом озере цианобактериальный комплекс в значительной степени определяет характер летнего фитопланктона. Одним из основных доминантов на протяжении длительного времени является потенциально токсичный *Aphanizomenon flos-aquae*. В последние десятилетия прослеживается увеличение роли безгетероцистных цианобактерий.

Работа выполнена в рамках государственного задания № 076-00004-23-00.

- Гусева Г.А. (1959): Роль Белого озера в формировании фитопланкто на Рыбинского водохранилища. Труды института биологии водохранилищ АН СССР 2 (5): 31–43.
- Корнева Л.Г. (2002): Фитопланктон Современное состояние экосистемы Шекснинского водохранилища. Ярославль: Изд-во ЯГТУ. С. 90–105.
- Кузьмин Г.В. (1976): Водоросли планктона Шекснинского и сопредельной акватории Рыбинского водохранилищ Биология, морфология и систематика водных организмов. Л: Наука. С. 3–60.
- Макарёнкова Н.Н. (2018): «Цветение» воды как показатель современного состояния фитопланктона озера Белого Вологодской области. Материалы II Всероссийской научной конференции с международным участием «Рыбохозяйственные водоёмы России: фундаментальные и прикладные исследования» (Санкт-Петербург, Россия): 252–256.
- Пырина И.Л., Минеева Н.М., Корнева Л.Г., Летанская Г.И. (1981): Фитопланктон и его продукция Антропогенное влияние на крупные озера Северо-Запада СССР. Ч. 2. Гидробиология и донные отложения озера Белого. Л: Наука. С. 15–64.

3.Б. Намсараев<sup>1</sup>, А.А. Мельникова<sup>1</sup>, А.В. Комова<sup>1</sup>

# ЖДЕТ ЛИ НАС РОСТ ЧИСЛА ВСПЫШЕК МАССОВОГО РАЗВИТИЯ ЦИАНОБАКТЕРИЙ В ВОДОЕМАХ РОССИИ?

Z.B. Namsaraev<sup>1</sup>, A.A. Melnikova<sup>1</sup>., A.V. Komova<sup>1</sup>

### SHOULD WE EXPECT MORE CYANOBACTERIAL BLOOMS IN RUSSIA?

<sup>1</sup>НИЦ «Курчатовский институт», Москва, zorigto@gmail.com

Вспышки массового развития цианобактерий в водоемах представляют собой широко распространенную и социально значимую проблему. Основными факторами вызывающими массовое развитие цианобактерий являются поступление избыточного количества биогенных элементов в водоем, благоприятные гидрологические и климатические условия. Негативными последствиями массового развития цианобактерий в водоемах являются нарушения функционирования систем водоснабжения, повышение концентрации цианобактериальных токсинов в воде, формирование анаэробных зон и заморы рыб, снижение туристической привлекательности и снижение стоимости недвижимости расположенной на берегу водоемов. Первые упоминания о массовом развитии цианобактерий в водоемах России относятся к концу

XIX века. В 1877 году профессор Санкт-Петербургского университета К.Я. Гоби в Нарвском заливе Финского залива наблюдал ярко выраженное «цветение» цианобактерий *Aphanizomenon flos aquae* (*Limnochlidae flos aquae* Кtz.) и *Rivularia flos aquae* (Гоби, 1879). Проблема массового развития цианобактерий обострилась после 1928 года, когда началось строительство крупных водохранилищ на реках Европейской части России, и интенсифицировалась в 1960-х годах параллельно с увеличением объема поступления сточных вод в водоемы (Успенский, 1932; Кузин, 1965). В начале 1990-х годов в России произошло снижение объемов сброса сточных вод и сокращение использования удобрений в сельском хозяйстве, которое сопровождалось снижением интенсивности цветения ряда крупнейших водохранилищ России (Melnikova et al., 2022).

В настоящее время массовое развитие цианобактерий отмечается в водоемах всех климатических зон и федеральных округов России (Namsaraev et al., 2020). Для крупных водоемов южной и центральной части европейской части России, где возможно проведение анализа многолетних рядов спутниковых изображений, наблюдается усиление интенсивности «цветений» в 2000-е годы. Также отмечаются вспышки массового развития цианобактерий в водоемах расположенных в Арктической зоне РФ. Учитывая активное развитие сельского хозяйства и рост среднегодовых температур в России, создаются условия для увеличения интенсивности развития цианобактерий в водоемах. Анализ мировых трендов показывает, что вспышки массового развития цианобактерий вызываются комплексом факторов, имеющих выраженную региональную специфичность, что требует учета местных особенностей при разработке программ по улучшению качества воды и экологического состояния водоемов.

- Гоби X. (1879): Отчет об альгологических изысканиях произведенных летом 1877 г. в Финском заливе. *Труды Санкт-Петербургского общества естествоиспытателей*. 10: С. 83–92.
- Кузин Б.С. (1965): Экология и физиология синезеленых водорослей.— Москва-Ленинград: Наука.— 273 с.
- Melnikova, A.A., Komova, A.V. & Namsaraev, Z.B. (2022) Trends and Driving Forces of Cyanobacterial Blooms in Russia in the 20th and early 21st Centuries *Microbiology* 91(6): 649–661 pp.
- Namsaraev, Z., Melnikova, A., Komova, A., Ivanov, V., Rudenko, A., & Ivanov, E. (2020): Algal bloom occurrence and effects in Russia *Water* 12(1): P. 285.