УДК 574.24:581.52

Генетическое разнообразие, морфология и экология *Nostoc commune* Vauch. ex Born. et Flah. (Cyanoprokaryota) от тундровых до степных экосистем

Genetic diversity, morphology and ecology of *Nostoc commune* Vauch. ex Born. et Flah. (Cyanoprokaryota) from tundra to steppe ecosystems

Патова Е. Н.[1], Сивков М. Д.[1], Новаковская И. В.[1], Егорова И. Н.[2], Давыдов Д. А.[3], Романов Р. Е.[4], Харпухаева Т. М.[5]

Patova E. N.[1], Sivkov M. D.[1], Novakovskaya I. V.[1], Egorova I. N.[2], Davydov D. A.[3], Romanov R. E.[4], Kharpukhaeva T. M.[5]

[1] ФГБУН «Институт биологии Коми НЦ УрО РАН», г. Сыктывкар, Россия. E-mail: patova@ib.komisc.ru
1Institute of Biology, Komi Science Centre RAS, Syktyvkar, Russia

[2] Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, г. Иркутск, Россия. E-mail: egorova@sifibr.irk.ru

[3] Полярно-альпийский ботанический сад-институт КНЦ РАН, г. Апатиты, Россия. E-mail: d_disa@mail.ru

[4] Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, г. Новосибирск, Россия. E-mail: romanov_r_e@ngs.ru

[5] ФГБУН Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, г. Улан-Удэ, Россия. E-mail: takhar@mail.ru

[1] Institute of Biology, Komi Science Centre RAS, Syktyvkar, Russia

[2] Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, Irkutsk, Russia

[3] Polar-alpine botanical garden-institute of the Kola SC RAS, Apatity, Russia

[4] Central Siberian Botanical Garden, SB, RAS, Novosibirsk, Russia

[5] Institute of General and Experimental Biology SB RAS, Ulan-Ude, Russia

Реферат. В работе приведены результаты изучения морфологических свойств, экологии, функциональных показателей и генетического разнообразия популяций широко распространенного вида цианопрокариоты *Nostoc commune*, обитающих на широтном градиенте от тундровых и альпийских регионов до степных сообществ Евразии.

Summary. The results of studying the morphological properties, ecology, functional indices and genetic diversity of populations of the widespread species *Nostoc commune* growing on a latitudinal gradient from the tundra and alpine regions to the steppe communities of Eurasia are presented.

Цианопрокариота/цианобактерия *Nostoc commune* Vauch. ex Born. et Flah. – один из наиболее широко распространенных в наземных экосистемах видов. Данный вид образует макроскопические талломы, входит в комплекс доминантов растительных сообществ от тундровых до пустынных районов. *N. commune* благодаря способности к фиксации молекулярного азота играет особую роль в структурно-функциональной организации наземных экосистем арктических, аридных и горных регионов. Данный вид является космополитным и имеет широкую экологическую амплитуду – способен обитать как в водных, так и в наземных условиях, при разных температурах и условиях увлажнения. Вид используется в качестве модельного объекта многими исследователями (Novis, Smissen, 2006; Řeháková et al., 2007; Arima et al., 2012). Представители гетероцитных цианопрокариот рода *Nostoc* Vauch. ex Born. et Flah. (носток) имеют сходные, трудно различимые морфологические признаки. Собранный в природе материал и культуральные штаммы ностоков можно определить до вида только по морфологическим характеристикам зрелых колоний, что не всегда представляется возможным. В связи с этим точная идентификация в природном материале и в культурах вызывает трудности и требует дальнейшего исследования данного рода не только с морфологических и физиологических позиций, но и привлечения современных молекулярно-генетических методов. Изучение генетической дифференциации

популяций видов данного рода, изучение полиморфизма географически удаленных популяций, произрастающих в горных и равнинных местообитаниях различных природно-климатических зон, позволит подойти ближе к пониманию генетической изменчивости видов рода носток и других видов цианопрокариот на широтном градиенте.

Цель работы – изучение морфологических свойств, экологии, функциональных показателей и генетического разнообразия популяций *Nostoc commune*, произрастающих на широтном градиенте от тундровых и альпийских регионов до степных сообществ Евразии.

Пробы были собраны авторами публикации в течение 2012–2016 гг. в разных регионах России от тундровых до степных сообществ (таблица). Морфологические показатели были изучены для макроколоний, собранных в природных условиях. Измеряли размеры клеток и гетероцит. Средние размеры определяли по 100 измерениям по 60–70 срезам колонии. Для талломов из разных районов в лаборатории (при одинаковых условиях освещения, температуры и влажности талломов) выполнены сравнительные измерения фотосинтеза на инфракрасном газоанализаторе NDIR-7000 (SAXON Junkalor, Германия) и азотфиксации. Исследование азотфиксации выполнено методом ацетиленовой редукции (Stewart et al., 1968). Измерения этилена проведены на газовом хроматографе (Цвет-800, Россия). Для калибровки газоанализатора и газового хроматографа использовали поверочно-газовые смеси производства Linde Gas (АО «Линде Газ Рус», Россия). В сравнительной оценке качественного состояния талломов в качестве индикатора использовали хлорофильный индекс ChlNDI, рассчитанный на основе измерения отражательных спектров (измерены на спектрорадиометре FitldSpec HH 375-1075, США). Для оценки генетического разнообразия использован фрагмент последовательности гена 16S. Тотальная ДНК выделена с помощью набора «FastDNA Spin Kit» (QBioGene, Canada). Выделенную ДНК хранили при температуре –20 °С. Для амплификации фрагмента последовательности гена 16S использова-

Таблица

Функциональные характеристики макроколоний *Nostoc commune* из разных регионов Евразии

Номер пробы	Район сборов	Сообщество	Год сбора	NA	St. Dev.	ChlNDI	St. Dev.	Ф	St. Dev.
12	Полярный Урал	кустарничковая тундра	2013	134	9	0,316	0,019	1,89	0,10
13	Полярный Урал	пятнистая тундра	2013	81	0.34	0,185	0,005	1,28	0,04
3	Большеземельская тундра	ивняково-ерниковая тундра	2012	71	36	0,214	0,020	1,83	0,17
19	Мурманская обл.	луговое сообщество	2015	103	18	–	–	2,74	0,17
14	Приполярный Урал	горная тундра	2015	163	7	0,363	0,005	3,26	0,39
21	Приполярный Урал	горная тундра	2012	183	28	0,402	0,013	3,76	0,54
1	Забайкальский край	степь	2016	270	34	0,278	0,013	3,12	0,55
6	Сев. Кавказ, Новороссийск	горно-лесной пояс	2015	205	13	0,469	0,039	5,17	0,32
2	Курганская обл.	степь	2016	215	7	0,350	–	4,28	0,34
20	Курганская обл.	степь	2016	137	35	0,352	0,015	2,81	0,86
16	Республика Бурятия	степь	2014	304	45	0,353	0,004	4,52	0,54
15	Республика Хакасия	степь	2014	465	114	0,302	0,040	8,59	0,66
9	Сев. Тянь- Шань, Казахстан	горный луг	2016	334	31	0,359	0,010	6,96	1,09
10	Монголия	степь	2014	139	7	0,210	0,014	2,09	0,40
7	Приморский край	морская терраса	2016	155	25	0,331	0,045	5,40	0,29
17	Иркутская обл. (о.Ольхон)	луговое сообщество	2013	140	6	0,223	0,011	2,78	0,40

Примечание: NA – нитрогеназная активность, мкг C_2H_4 $г^{-1}ч^{-1}$; St. Dev. – стандартное отклонение для показателя; ChlNDI – хлорофильный индекс; Ф – фотосинтез, мг CO_2 $г^{-1}ч^{-1}$;

ны праймеры CYA781R и CYA106L. Выравнивание последовательностей и последующий анализ проводили при помощи программы MEGA 6.0. Для построения филогенетических деревьев был использован метод объединения ближайших соседей (NJ). Ваучерные образцы депонированы в коллекцию водорослей гербария SYKO.

Проведенные исследования показали, что изученные популяции ностока на широтном градиенте имеют некоторые отличия по исследованным параметрам.

Морфологический анализ выявил статистически значимые различия размеров клеток для популяций из тундровых и горных областей, как между собой, так и с популяциями из степных районов (Tukey test, $p < 0,05$). Размеры клеток у южных популяций ностоков крупнее. Для гетероцит такая закономерность не отмечена (рис. 1). Различия размеров клеток из южных областей между собой оказались статистически не значимы (Tukey test, $p = 0,821$). Размеры клеток исследованных популяций ранжируются (за исключением ностоков из самых северных районов) в ряду широтной зональности Тянь-Шань >

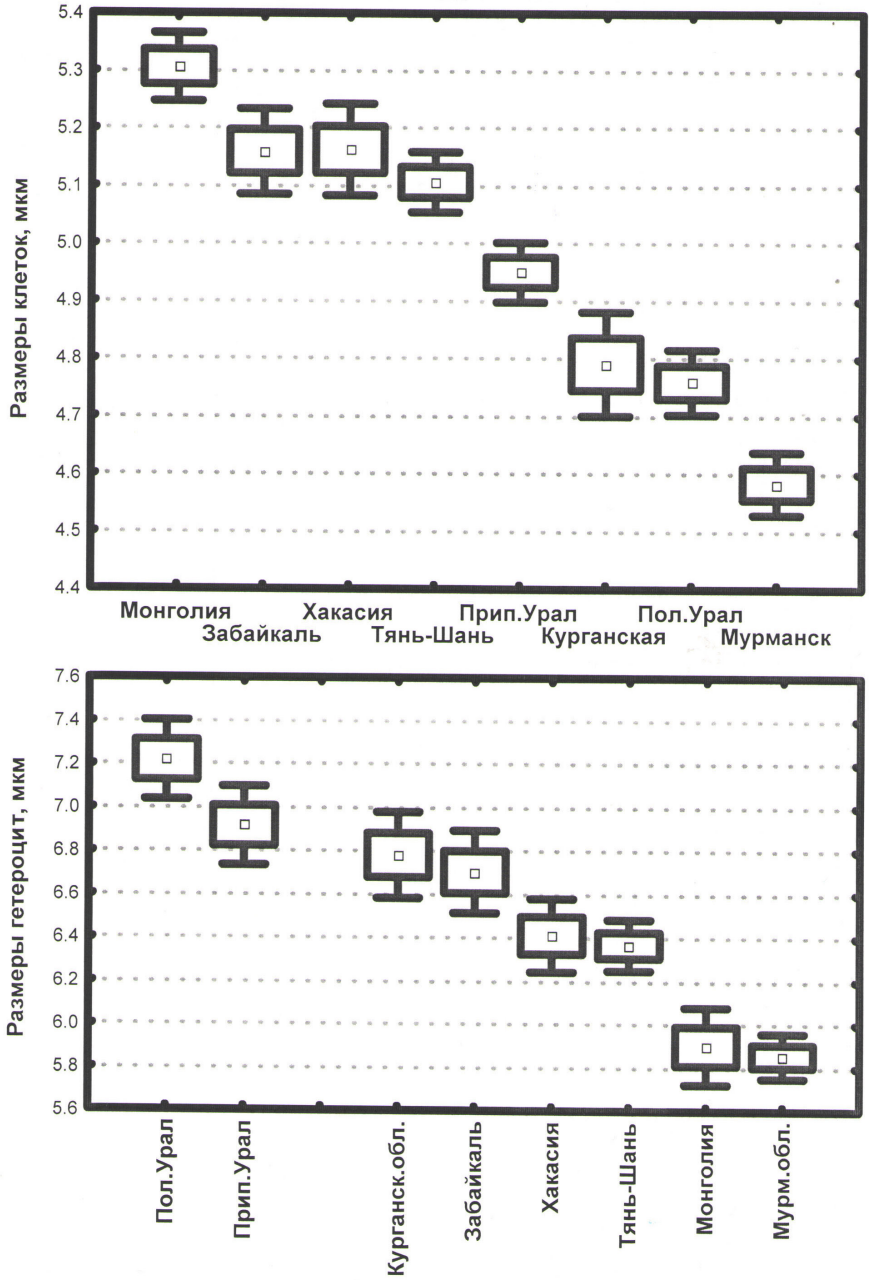

Рис. 1. Средние размеры (со стандартной ошибкой) клеток и гетероцит *Nostoc commune* в исследованных районах.

Хакасия > Приполярный Урал > Мурманская область > Полярный Урал. Анализ экологических условий в местах сбора колоний показал, что в условиях более сильного увлажнения наблюдаются более крупные размеры клеток и гетероцит.

Функциональные характеристики колоний также имеют различия на широтном градиенте. Результаты измерений нитрогеназной активности показали максимальные ее скорости (270–465 мкг C_2H_4 $г^{-1}ч^{-1}$) для ностоков из степных районов (таблица). Этим же пробам соответствовали более высокие значения скорости фотосинтеза (максимально 8,59 мг CO_2 $г^{-1}ч^{-1}$). Нитрогеназная активность ностоков из северных регионов была существенно ниже, в пределах 134–187 мкг C_2H_4 $г^{-1}ч^{-1}$. Фотосинтез ностоков из северных регионов также имел более низкие значения 1,89–5,40 мг C_2H_4 $г^{-1}ч^{-1}$. Заметных различий для исследованных популяций по хлорофильному индексу, измеренному для макроколоний, не выявлено, он варьировал в пределах 0,210–0,469.

Для выявления полиморфизма популяций ностока проведены исследования с использованием широко применяемой при изучении цианопрокариот и других прокариотных организмов последовательности гена 16S рРНК (рис. 2). Изученные образцы из разных регионов обнаруживают высокое сходство исследуемого генетического материала. При этом на филогенетическом древе можно выделить отдельные клады, объединяющие ностоки из северных и южных регионов. В общую кладу входят образцы разных популяций *N. commune*, собранных в тундровых и горных районах европейского Севера, к ним примыкают популяции из северных регионов азиатского сектора. В общую кладу с хорошей поддержкой объединились популяции более южных горных и степных регионов. Отдельную кладу сформировали две популяции ностока, собранные в горных районах с морским климатом (Приморский край и Северный Кавказ, в районе Новороссийска). Генетически наиболее удаленной от остальных штаммов оказалась популяция *N. commune*, собранная на острове Ольхон (Иркутская обл.).

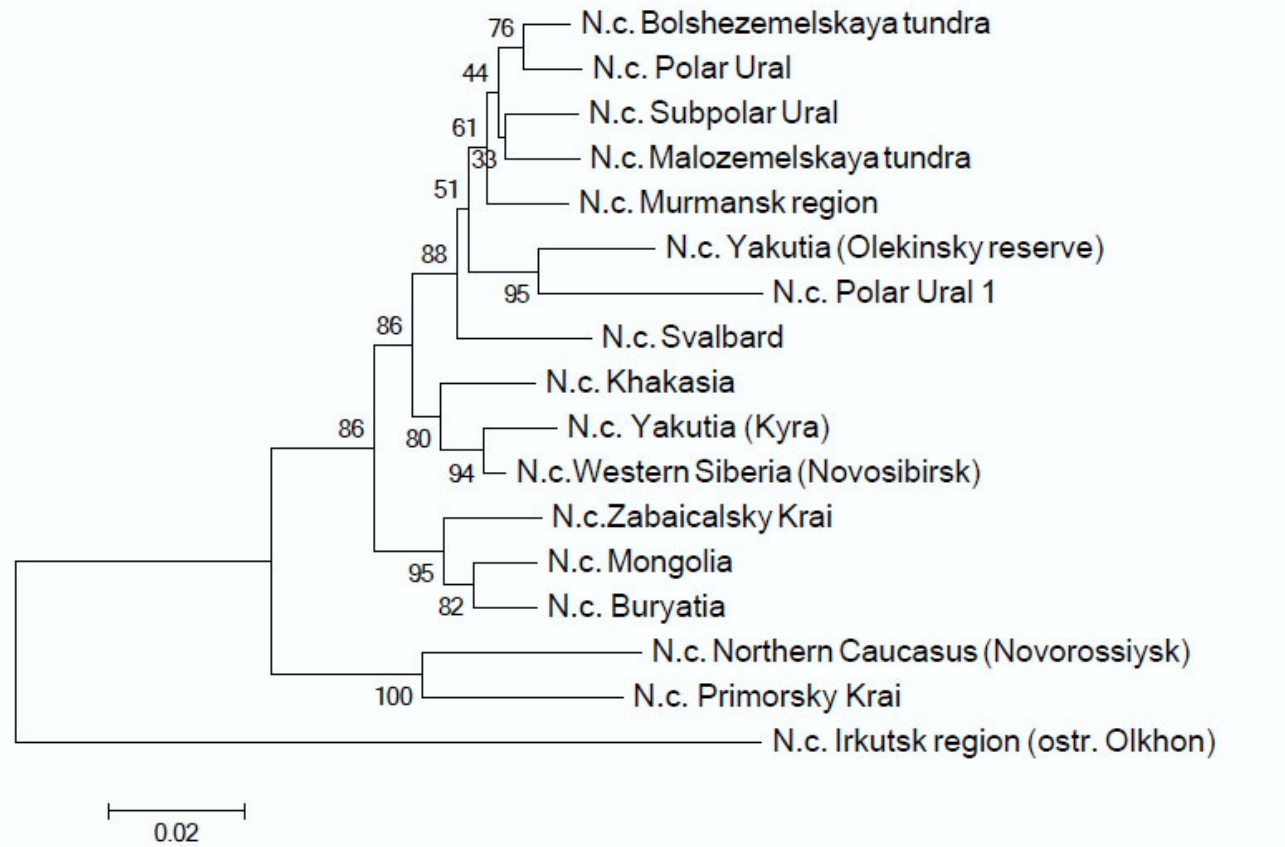

Рис. 2. Филогенетическое древо, построенное на основе последовательности гена 16 S рРНК для исследованных популяций *Nostoc commune*. Использован метод объединения ближайших соседей (NJ).

Проведенные исследования указывают на существование морфологических и функциональных различий у исследованных популяций *N. commune,* обитающих в разных географических зонах, что подтверждается и данными анализа генетического разнообразия популяций.

Благодарности. Результаты получены при поддержке грантов РФФИ № 18-04-00643 и 18-04-00171.

ЛИТЕРАТУРА

Arima H., Horiguchi N., Takaichi S., Kofuji R., Ishida K-I., Wada K., Sakamoto T. Molecular genetic and chemotaxonomic characterization of the terrestrial cyanobacterium *Nostoc commune* and its neighboring species // FEMS Microbiol. Ecol., 2012. – Vol. 79. – P. 34–45.

Novis P. M., Smissen R. D. Two genetic and ecological groups of *Nostoc commune* in Victoria Land, Antarctica, revealed by AFLP analysis // Antarctic Science, 2006. – Vol. 18, No. 4. – P. 573–581.

Řeháková K., Johansen J. R., Casamatta D. A., Xuesong L., Vincent J. Morphological and molecular characterization of selected desert soil cyanobacteria: three species new to science including *Mojavia pulchra* gen. et sp. nov. // Phycologia, 2007. – Vol. 46. – P. 481–502.

Stewart W. D. P., Fitzgerald G. P., Burris R. H. Acetylene reduction by nitrogen fixing bluegreen algae // Arch. Microbiol., 1968. –Vol. 62, No. 4. – P. 336–348.