

УДК 57.083.18+574.472

МИКРОВОДОРОСЛИ ЭРОДИРОВАННЫХ ПОЧВ СЕВЕРНОЙ ЧАСТИ ФЕРГАНСКОЙ ДОЛИНЫ, УЗБЕКИСТАН

© 2024 г. Ю. А. Тухтабоева^а, Е. С. Кривина^б, В. В. Редькина^б, А. Д. Темралеева^{б, *}

^аНаманганский государственный университет, Наманган, 160119, Узбекистан

^бВсероссийская коллекция микроорганизмов (ВКМ),

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, ФИЦ ПНЦБИ РАН,
Пушино, 142290, Россия

*e-mail: temraleeva.anna@gmail.com

Поступила в редакцию 01.12.2023 г.

После доработки 26.01.2024 г.

Принята к публикации 08.02.2024 г.

Впервые изучено культивируемое разнообразие микроводорослей эродированных почв северной части Ферганской долины (Узбекистан) на основе морфологического и молекулярно-генетического анализов. Было обнаружено 10 штаммов зеленых микроводорослей (Chlorophyta) и 1 – харофитовых (Charophyta). Только 7 штаммов микроводорослей было определено до вида: *Chlorella vulgaris*, *Chromochloris zofingiensis*, *Deuterostichococcus epilithicus*, *Pseudomuriella schumacherensis* и *Pseudostichococcus monallantoides*. Еще 4 штамма идентифицированы только до рода и нуждаются в дальнейших исследованиях: *Bracteacoccus* sp., *Chlorosarcinopsis* sp., *Klebsormidium* sp. и *Tetrastichococcus* sp. Невысокое видовое разнообразие микроводорослей можно объяснить как эродированностью и малопродуктивностью почв на склонах, так и особенностями культурального подхода, выявляющего только часть от реального разнообразия микроорганизмов. Колонизировать эродированные почвы в условиях засушливой предгорной зоны микроводоросли могут с помощью различных адаптаций: мелкие клеточные размеры, продукция внеклеточных экзополисахаридов, микоспорин-подобные аминокислоты и вторичные каротиноиды. Проведенное исследование может стать основой для дальнейшей разработки высокофункциональных консорциумов на основе микроводорослей с целью улучшения и устойчивого развития низкопродуктивных, засушливых, деградированных наземных экосистем.

Ключевые слова: микроводоросли, разнообразие, морфология, *rbcL*, ITS2, почвы, эрозия

DOI: 10.31857/S0026365624040024

Эрозия представляет собой деградацию почвенного покрова под действием поверхностного стока и (или) ветра с последующим перемещением и перераспределением почвенного материала. Проблема охраны почв от эрозии актуальна для многих стран аридной зоны мира. Так, в Центральной Азии общая площадь, затронутая водной эрозией, составляет более 30 млн. гектаров, а ветровой эрозией – около 67 млн. гектаров; в частности, в Узбекистане до 80% сельскохозяйственных земель затронуты водной эрозией (ФАО ООН, 2015). При этом темпы, масштабы и интенсивность эрозии возрастают из-за некачественного управления почвенными ресурсами. Учитывая, что за последние 50 лет население Центральной Азии выросло в 3 раза, а водные ресурсы в сложных климатических условиях сокращаются, страны региона сталкиваются с серьезными вызовами в сфере продовольственной безопасности (ФАО ООН, 2015). Известно, что почвенные

биокорочки образуют наиболее продуктивную микробную биомассу во многих засушливых и нарушенных территориях, включая эродированные почвы, где высшая растительность редка, а ключевым компонентом биокорочек являются микроводоросли и цианобактерии (Glaser et al., 2018). Их можно охарактеризовать как “экосистемных инженеров”, которые играют важную экологическую роль в первичной продукции углерода, круговороте азота, минерализации, удержании воды, образовании водостойчивых агрегатов и стабилизации почв в целом (Evans, Johansen, 1999; Castillo-Monroy et al., 2010). Многие микроводоросли и цианобактерии выделяют высокогидратированные полимеры – экзополисахариды (ЭПС) в окружающую среду (Xiao, Zheng, 2016). Они имеют основополагающее значение для микробной жизни и обеспечивают идеальную среду для химических реакций, адсорбцию питательных веществ, защиту от стрессов окружающей среды,

таких как засоление и засуха, усиливая агрегацию почвенных частиц и поддерживая влажность окружающей среды (Costa et al., 2018). Таким образом, водоросли защищают нарушенные территории от эрозии (Metting, 1981), улучшают почвенные условия для колонизации более поздних сукцессионных видов, в том числе, способствуя успешному возобновлению роста сосудистых растений (Seitz et al., 2017). В связи с этим были предложены природоподобные технологии по восстановлению деградированных почв с помощью инокуляции микроводорослей и цианобактерий (Pereira et al., 2018; Lu et al., 2022; Rabiei et al., 2023).

Цель данной работы — изучить культивируемое разнообразие микроводорослей эродированных почв северной части Ферганской долины (Узбекистан) с использованием методов световой микроскопии и ДНК-анализа. Молекулярно-генетическая идентификация почвенных микроводорослей Узбекистана проведена впервые.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Описание районов исследования. Ферганская долина представляет собой межгорную впадину в горах Средней Азии, разделенную между тремя

государствами: Узбекистаном, Таджикистаном и Киргизией. В северной части Ферганской долины, на правом берегу реки Сырдарья расположена Наманганская область Республики Узбекистан. Климат в области континентальный, с сухим летом и мягкой, влажной зимой. Средняя температура в январе составляет 4°C, в июле 35°C. На равнинах количество осадков колеблется от 135 мм до 370 мм в год, в предгорных районах — от 460 до 630 мм. Почвенно-альгологические образцы были отобраны в трех административных единицах Наманганской области — Папском, Чустском и Чартакском районах (рис. 1).

Ниже приводим описание точек пробоотбора:

1. Чуст-Папские холмы (Папский район). Высота над уровнем моря 496 м. В результате размыва гравийные и третичные засоленные глины, а также каменно-гравийные оштукатуренные, осыпчато-скелетные, слабозразвитые серо-бурые почвы. GPS-координаты: 40°52'37.14" с.ш. 70°59'44.76" в.д.

2. Резаксайские овраги (Чустский район). Высота над уровнем моря 502 м. Окрестности оврагов подвержены водной эрозии. Почвы аллювиальные, светло-серые со средним суглинком. GPS-координаты: 40°58'34.92" с.ш. 71°19'21.8" в.д.

3. Левые холмы (Чартакский район). Высота над уровнем моря 707 м. Почвы представлены

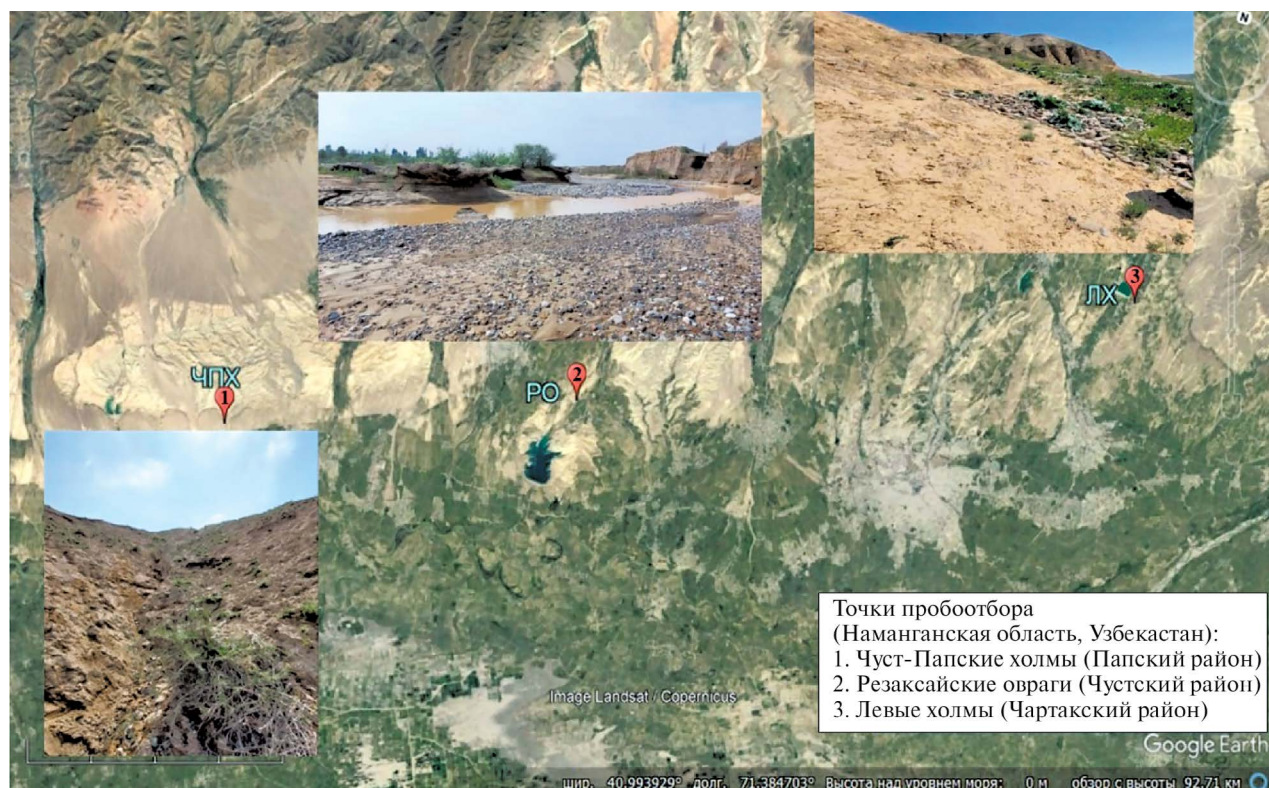


Рис. 1. Фотографии мест отбора почвенно-альгологических образцов и карта районов исследования эродированных почв северной части Ферганской долины с указанием точек отбора.

типичными сероземами с тяжелыми и средними суглинками, в разной степени промыты, местами покрыты гравием толщиной 0.5–1 м. GPS-координаты: 41°10'22.14" с.ш. 71°49'29.34" в.д.

Географические координаты были получены с помощью программы Google Earth Pro 7.1 (<https://www.google.com/earth/>).

Отбор почвенно-альгологических образцов. Почвенные пробы стерильно отбирали в апреле 2022 года из верхнего горизонта A1 на глубину 5–10 см. Металлический нож для пробоотбора обрабатывали 96%-ным этиловым спиртом и обжигали в пламени горелки. Пробы помещали в стерильные пакеты и транспортировали в лабораторию для дальнейших анализов. Всего было отобрано 4 смешанных почвенных пробы: по одной из Левых холмов и Резаксайских оврагов и две — из Чуст-Папских холмов.

Изоляция и культивирование штаммов микроводорослей. Для выделения водорослей применяли метод накопительных водно-почвенных и чашечных культур, а также посев почвенной суспензии на жидкие и агаризованные среды Bristol и BG-11 (Темралеева и соавт., 2014). Для получения монокультур использовали метод посева штрихом и изоляции отдельных колоний с помощью пипетки Пастера (Темралеева и соавт., 2014). Далее штаммы культивировали на твердой питательной среде BG-11 с азотом (pH 7.0; агар 1%) в климатостате при стандартных условиях (температура 23–25°C, интенсивность освещения 60–75 мкмоль фотонов м⁻² с⁻¹, фотопериод 12 ч). Все изученные штаммы были депонированы в Альгологическую коллекцию ACSSI (<http://acssi.org/>).

Световая микроскопия. Морфологию и жизненные циклы штаммов микроводорослей изучали методом световой микроскопии с помощью микроскопа Leica DM750 (Германия). Результаты наблюдений документированы фотографиями,

снятыми с помощью цветной цифровой камеры Leica Flexacam C3 (Германия). Сроки наблюдения составляли от 1 до 12 недель. При морфологической идентификации штаммов микроводорослей учитывали важные диакритические признаки, такие как тип организации таллома, форма и размеры клеток, количество и тип хлоропласта, присутствие пиреноида, наличие и толщина слизистых оболочек, способ размножения и др. Для морфометрических измерений использовали программу Leica Application Suite X. Для сравнения размеров измеряли 100 клеток каждого штамма. При морфологической идентификации микроводорослей использовали тематические определители (Андреева, 1998; Ettl, Gärtner, 1995) и избранные статьи (Fucíková et al., 2011; Fucíková, Lewis, 2012; Pröschold, Darienko, 2020). За основу в данной работе выбрана система водорослей, принятая в международной электронной базе данных Algae Base (Guiry, Guiry, 2023).

Выделение тотальной ДНК, амплификация, очистка и секвенирование ампликонов. Суммарную ДНК из штаммов выделяли с помощью колоночного набора DNeasy Plant Mini Kit (“Qiagen”, США), следуя протоколу производителя. Для амплификации использовали готовую смесь Screen Mix-HS (“Евроген”, Россия). Условия и праймеры для амплификации *rbcL* (McManus, Lewis, 2011) и ITS2 (Johnson et al., 2007), которые были выбраны в качестве молекулярных маркеров для штамма *Klebsormidium* sp. и всех остальных микроводорослей, соответственно, указаны в таблице 1.

Детекцию целевых ПЦР-продуктов проводили электрофоретически в 1%-ном агарозном геле. Для дальнейшей очистки ампликонов из геля применяли набор Cleanup Standard (“Евроген”, Россия). Секвенирование осуществляли в коммерческой компании “Евроген” (Россия).

Молекулярно-филогенетический анализ. Для молекулярно-генетической идентификации штаммов

Таблица 1. Праймеры и условия амплификации ITS2 и *rbcL*

Локус	Праймер	Последовательность (5'–3')	Условия амплификации
ITS2	ITS-AF	CGTTTCCGTAGGTGAACCTGC	95°C – 3 мин.; 95°C – 30 с, 57.6°C – 30 с, 72°C – 40 с, 30 циклов 72°C – 10 мин
	ITS-BR	CATATGCTTAAGTTCAGCGGG	
<i>rbcL</i>	M28F	GGTGTGATTWAAAGCTGGTGT	94°C – 5 мин; 94°C – 1 мин 15 с, 56°C – 2 мин, 72°C – 2 мин 15 с, 30 циклов; 72°C – 7 мин
	M1390Ra	CTTTCCAAAYTTCACAAGCAGCAG	
	M633F*	CATGCGTTGGAGAGACCGT	
	M650R*	CGGTCTCTCCAACGCATGA	

*Внутренние секвенирующие праймеры.

микроводорослей был осуществлен поиск гомологии нуклеотидных последовательностей ITS2/*rbcL* по алгоритму BLASTn в GenBank NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>). Отбор последовательностей осуществляли исходя из критериев максимального родства (сходство $\geq 95\%$), качества прочтения (без вырожденных и неизвестных нуклеотидов), длины прочтения и принадлежности к типовым видам и коллекционным аутентичным штаммам. Множественное выравнивание было выполнено в программе BioEdit по алгоритму ClustalW. Выбор нуклеотидных замен осуществляли с помощью программы IQ-TREE v. 2.2, ориентируясь на минимальное значение BIC критерия (Bayesian information criterion). Оценка топологии ветвей с помощью теста SH-aLRT была реализована в блоке построения филогенетического дерева uGENE. Реконструкцию филогенетических взаимосвязей с помощью метода максимального правдоподобия (ML) осуществляли в программе PhyML, с использованием байесовского вывода (BI) — с использованием программного пакета BEAST 2 v. 2.7.5 и рекомендаций Barrido-Sottani et al. (2018). В качестве статистической поддержки узлов дерева указаны значения SH-aLRT-поддержки (SH-aLRT), бутстреп-поддержки ML (BP) и апостериорных вероятностей BI (PP). Филогенетические деревья были визуализированы в программе FigTree v. 1.3.1. Различия между нуклеотидными последовательностями охарактеризовали с помощью генетических различий, мерой которых являлся процент несовпадений нуклеотидов при попарном сравнении выровненных последовательностей, вычисленный в программе MEGA 11. Для сравнения топологий деревьев использовали данные статей Fuciková, Lewis (2012); Mikhailuyk et al. (2015); Samolov et al. (2018); Pröschold, Darienko (2020); Krivina et al. (2023) и др.

Для анализа вторичной структуры ITS2 была выполнена аннотация спейсера в ITS2-DataBase (<http://its2.bioapps.biozentrum.uni-wuerzburg.de/>) и его фолдинг с помощью веб-сервера RNAfold web server (<http://rna.tbi.univie.ac.at/cgi-bin/RNAWebSuite/RNAfold.cgi>), руководствуясь принципом минимальной энергии. Правильность фолдинга ITS2 микроводорослей оценивали, ориентируясь на работу Caisová et al. (2013). Сравнение вторичной структуры ITS2 между штаммами и поиск компенсаторных замен (CBCs) осуществляли между всеми штаммами выборки в программе 4SALE. При анализе вторичных структур ITS2 для разделения видов особое внимание было уделено подходу, предложенному A. Coleman (2009), который показал, что наличие хотя бы одной CBC в консервативных регионах ITS2 (5 п.н. I шпильки, 10 п.н. II шпильки, вся III шпилька) у двух микроводорослей коррелирует с их полной половой несовместимостью. Напротив, CBC в менее консервативных регионах не были связаны со способностью скрещиваться.

Все полученные последовательности были депонированы в GenBank NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) под номерами OR838744 (*rbcL*) и OR852641—OR852650 (ITS2).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате изоляции и очистки были получены 2 штамма микроводорослей из почв Левых холмов, 4 штамма из почв Чуст-Папских холмов и 5 штаммов из почв Резаксайских оврагов. Из 11 альгологически чистых культур 10 принадлежали зеленым микроводорослям (Chlorophyta) и 1 — харофитовым (Charophyta). Ниже приводим их морфологическое описание и молекулярно-генетический анализ по районам исследования.

Морфологический и молекулярно-генетический анализ штаммов микроводорослей

***Klebsormidium* sp. ACSSI 436 (Чуст-Папские холмы).** Клетки в одноклеточных неразветвленных, легко распадающихся нитях, цилиндрической формы, на концах нитей — закругленные, 7–8 мкм шириной, 7–22 мкм длиной. Клеточная стенка тонкая и гладкая. Хлоропласт один — пристенный, с одним пиреноидом в центре, окруженным крахмальной оберткой. Бесполое размножение фрагментацией нитей, зооспорогенез в культуре не наблюдали. Таким образом, штамм является единственным представителем харофитовых водорослей и, в целом, соответствует описанию рода *Klebsormidium* (рис. 2а).

Для него ген 18S рРНК, а также внутренние транскрибируемые спейсеры (ITS1 и ITS2) являются консервативными молекулярными маркерами; последние не позволяют провести четкое разделение между некоторыми кладами (особенно В и С) и между видами (особенно в кладе Е) по данным Mikhailuyk et al. (2015). Поэтому для видовой идентификации представителей данной группы используют более вариабельный пластидный ген *rbcL*. Исследуемый штамм ACSSI 436 вошел в состав клады Е рода *Klebsormidium* в соответствии с классификацией, предложенной F. Rindi et al. (2011). В рамках данной клады он совместно с рядом неаутентичных штаммов *Klebsormidium* spp. формировал независимый кластер (рис. 3).

Генетические дистанции внутри данного кластера варьировали в диапазоне 0–2.2%. Между ACSSI 436 и аутентичным штаммом *K. subtile* SAG 384-1, формирующим сестринскую филогенетическую линию, уровень генетических различий составлял 3.7%. На примере представителей клады F и G, видовое разнообразие которых в настоящее время наиболее полно описано (Mikhailuyk et al., 2015; Samolov et al., 2018), можно сказать, что

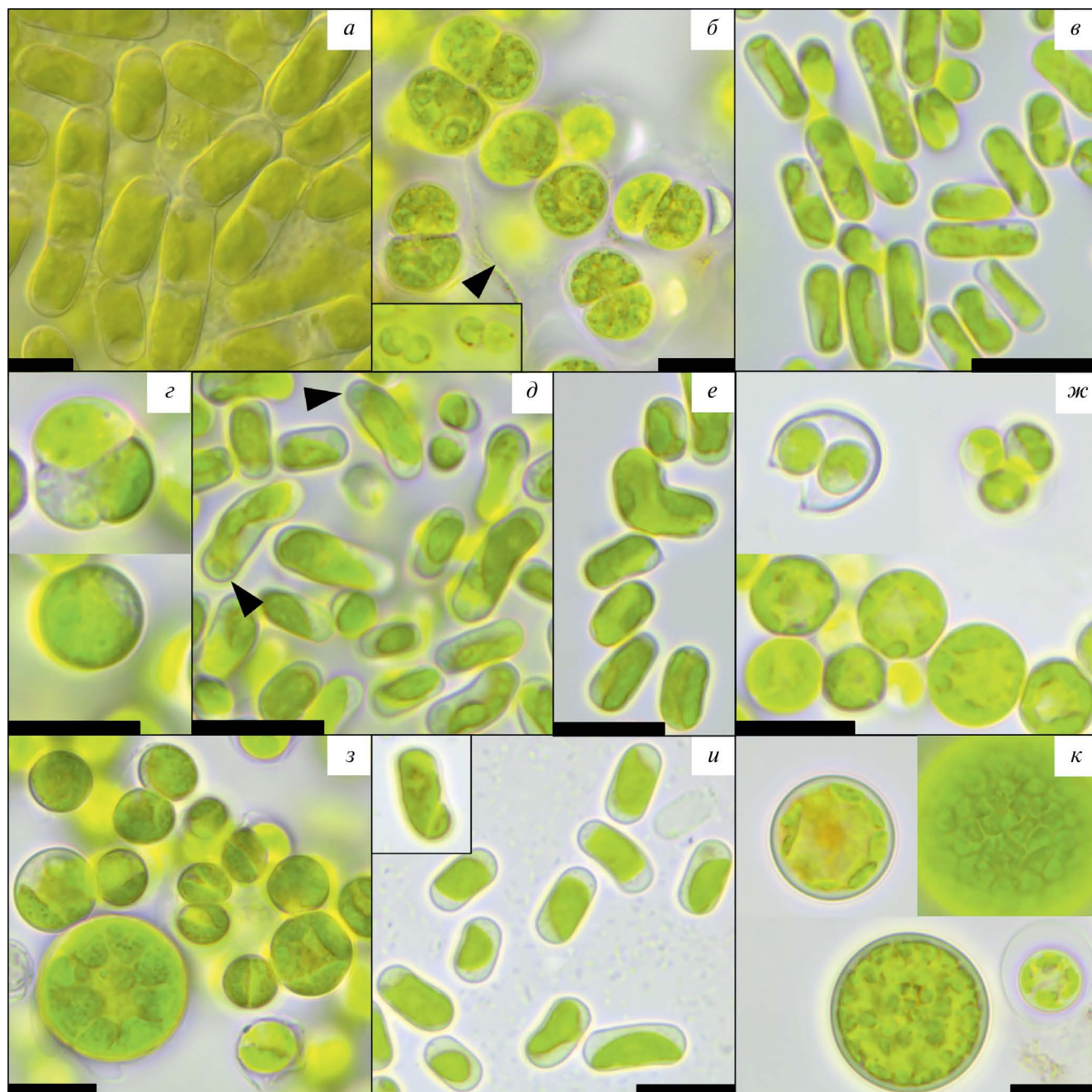


Рис. 2. Фотографии штаммов микроводорослей, выделенных из эродированных почв Ферганской долины: а – *Klebsormidium* sp. ACSSI 436; б – *Chlorosarcinopsis* sp. ACSSI 445, на вставке продемонстрированы зооспоры, стрелка указывает на слизь; в – *Tetrastichococcus* sp. ACSSI 446; г – *Chlorella vulgaris* ACSSI 441; д – *Pseudostichococcus monallantoides* ACSSI 438, стрелки указывают на капли масла; е – *P. monallantoides* ACSSI 439; ж – *Chromochloris zofingiensis* ACSSI 437; з – *Pseudomuriella schumacherensis* ACSSI 444; и – *Deuterostichococcus epilithicus* ACSSI 440; к – *Bracteacoccus* sp. ACSSI 443. Масштабная метка – 10 мкм.

уровень межвидовых различий внутри рода колеблется от 2 до 16.6% по *rbcL*. Таким образом, учитывая независимое филогенетическое положение исследуемого штамма ACSSI 436 и уровень генетических различий с сестринским аутентичным

штаммом *K. subtile* SAG 384-1, он, вероятно, является кандидатом в новый неописанный вид и пока идентифицирован как *Klebsormidium* sp.

***Chlorosarcinopsis* sp. ACSSI 445 (Чуст-Панские холмы).** Клетки в пакетах по 2–4 и более клеток



МИКРОБИОЛОГИЯ том 93 № 4 2024

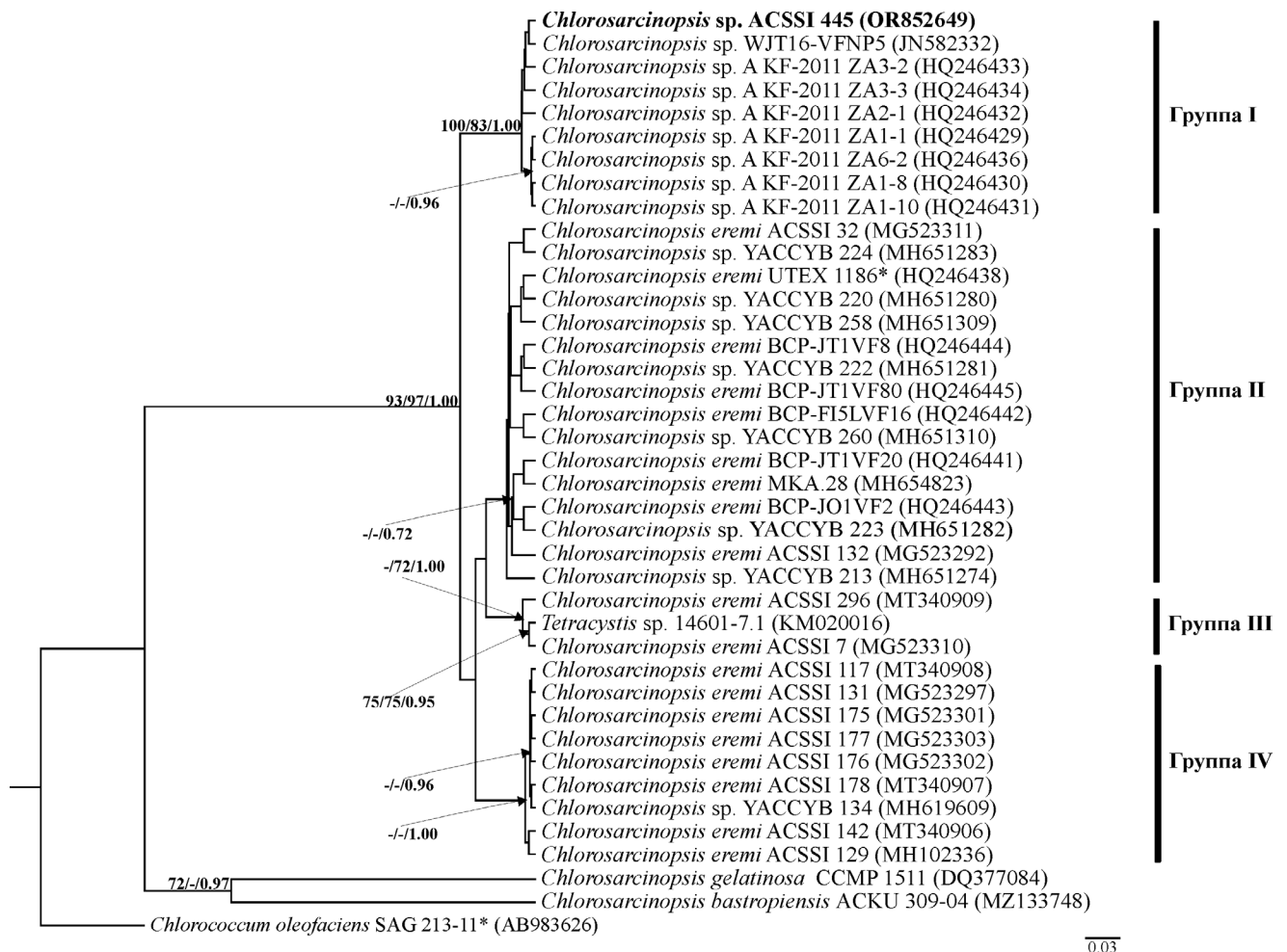


Рис. 4. Укорененное филогенетическое дерево исследуемых зеленых микроводорослей рода *Chlorosarcinopsis*, построенное методом Байеса, на основе последовательностей внутреннего транскрибируемого спейсера ITS2 (284 н.). В качестве статистической поддержки узлов дерева указаны значения SH-aLRT/BP/PP. Значения SH-aLRT и BP менее 70% и PP менее 0.7 не указаны. Модель нуклеотидных замен: TIM2e + G4. Обозначения: * — аутентичные штаммы.

со слизию, иногда образуют псевдонитчатые скопления. Одиночные клетки шаровидные, в клеточных агрегатах — слегка уплощенные, до 12 мкм в диаметре. Хлоропласт один, в молодых клетках пристенный чашевидный, во взрослых занимает всю полость клетки, с одним пиреноидом, окруженным крахмальной оберткой. Запасные продукты — оранжевые липидные капли. При старении культура краснеет. Размножение голыми зооспорами широко эллипсоидной или шаровидной формы 3.5–4 мкм в диаметре, со стигмой. От описания *C. eremi* отличается наличием слизи (рис. 2б), формой и размерами зооспор — в диагнозе вида указана яйцевидная форма и длина до 11 мкм (Андреева, 1998). По данным молекулярно-генетического анализа ITS2, исследуемый штамм ACSSI 445 вошел в состав кластера, объединяющего штаммы *Chlorosarcinopsis eremi*, но разделенного на 4 группы (рис. 4).

Штамм ACSSI 445 вошел в состав группы I. Уровень генетических различий между ним и другими членами — 0–1.6%. Аутентичный штамм UTEX 1186 вошел в состав группы II, в рамках которой генетические дистанции составляли 0–0.5%. Генетические различия в группе III варьировали в диапазоне 1.1–2.2%, в группе IV — 0–1.1%. При этом генетические дистанции между штаммом ACSSI 445 и аутентичным штаммом UTEX 1186 были равны 3.8%, а в целом между представителями разных групп — от 1.6 до 5.5%. Различия ITS2 между кластером *C. eremi*, неаутентичным штаммом *C. gelatinosa* и неаутентичным штаммом *C. bastropiensis* составляли 33–40.6%. CBCs отсутствовали. В связи с ограниченной выборкой видов *Chlorosarcinopsis*, у которых есть доступные последовательности ITS2, четко идентифицировать границы межвидовой и внутривидовой изменчивости

не представляется возможным. Поэтому штамм ACSSI 445 определен как *Chlorosarcinopsis* sp.

***Tetratostichococcus* sp. ACSSI 446 (Чуст-Папские холмы).** Клетки цилиндрические с закругленными концами, иногда слегка искривленные (рис. 2в). Размеры клеток $4\text{--}19 \times 2.5\text{--}3.9$ мкм. Средний размер 7.8×3.2 мкм при отношении длины к ширине 2.4. Хлоропласт один, пристенный, с пиреноидом. Изредка в культуре наблюдали короткие нити из 2 клеток. Размножение осуществлялось вегетативным делением клеток или фрагментацией нитей. В целом соответствует описанию вида *Tetratostichococcus jenerensis* (Neustupa et al., 2007; Pröschold, Darienko, 2020). Штамм ACSSI 446 группировался со штаммами *Tetratostichococcus jenerensis* (рис. 5).

Уровень генетических различий ITS2 с аутентичным штаммом SAG 2138 составил 3.5%, со штаммом KS126SM6L — 2.1%. При этом была обнаружена 1 CBC в вариабельном регионе шпильки I (10 п.н.) (ESM_1), отличающая штамм KS126SM6L от других представителей кластера (дополнительные материалы). Так как род *Tetratostichococcus* монотипный и включает всего три опубликованные последовательности ITS2, данная группа нуждается в дополнительном изучении. Штамм ACSSI 446 был идентифицирован как *Tetratostichococcus* sp.

***Chlorella vulgaris* ACSSI 441 (Чуст-Папские холмы), ACSSI 442 (Резаксайские овраги).** Клетки одиночные или в скоплениях, шаровидные, $3\text{--}11$ мкм в диаметре (рис. 2г). Хлоропласт один, пристенный, чашевидный, с одним пиреноидом, окруженным крахмальной оберткой. Размножение 2–8 автоспорами. В целом соответствует описанию вида *Chlorella vulgaris* (Андреева, 1998). Исследуемые штаммы ACSSI 441 и ACSSI 442 в рамках клады *Chlorella* формируют кластер с представителями *C. vulgaris* (рис. 6), в т.ч. аутентичным штаммом SAG 211-11b.

Генетические дистанции между ACSSI 441 и ACSSI 442 — 1.4%, ACSSI 441 и SAG 211-11b — менее 0.6%, ACSSI 442 и SAG 211-11b — 1.3%. В рамках клады *Chlorella* такой уровень генетических различий ITS2 соответствует внутривидовому уровню. Для сравнения наименьшие межвидовые генетические различия в рамках данной клады отмечены между *Micractinium variabile* и *M. singularis* — 1.5%. CBCs отсутствуют. Таким образом, штаммы ACSSI 441 и ACSSI 442 отнесены к виду *C. vulgaris*.

***Pseudostichococcus monallantoides* ACSSI 438, ACSSI 439 (Резаксайские овраги).** Штамм ACSSI 438 характеризовался цилиндрическими клетками с закругленными концами, иногда искривленными или расширенными с одной из сторон (рис. 2д). Размеры клеток $3.6\text{--}13 \times 2.7\text{--}4.1$ мкм. Средний

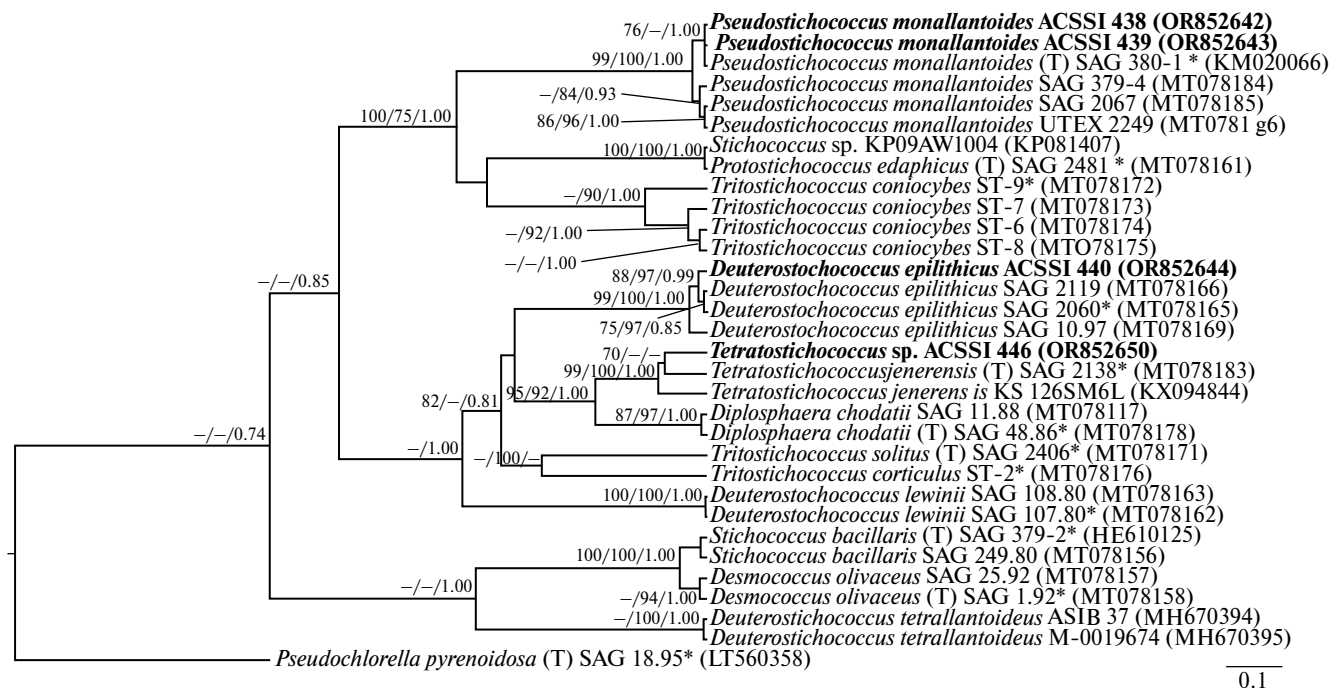
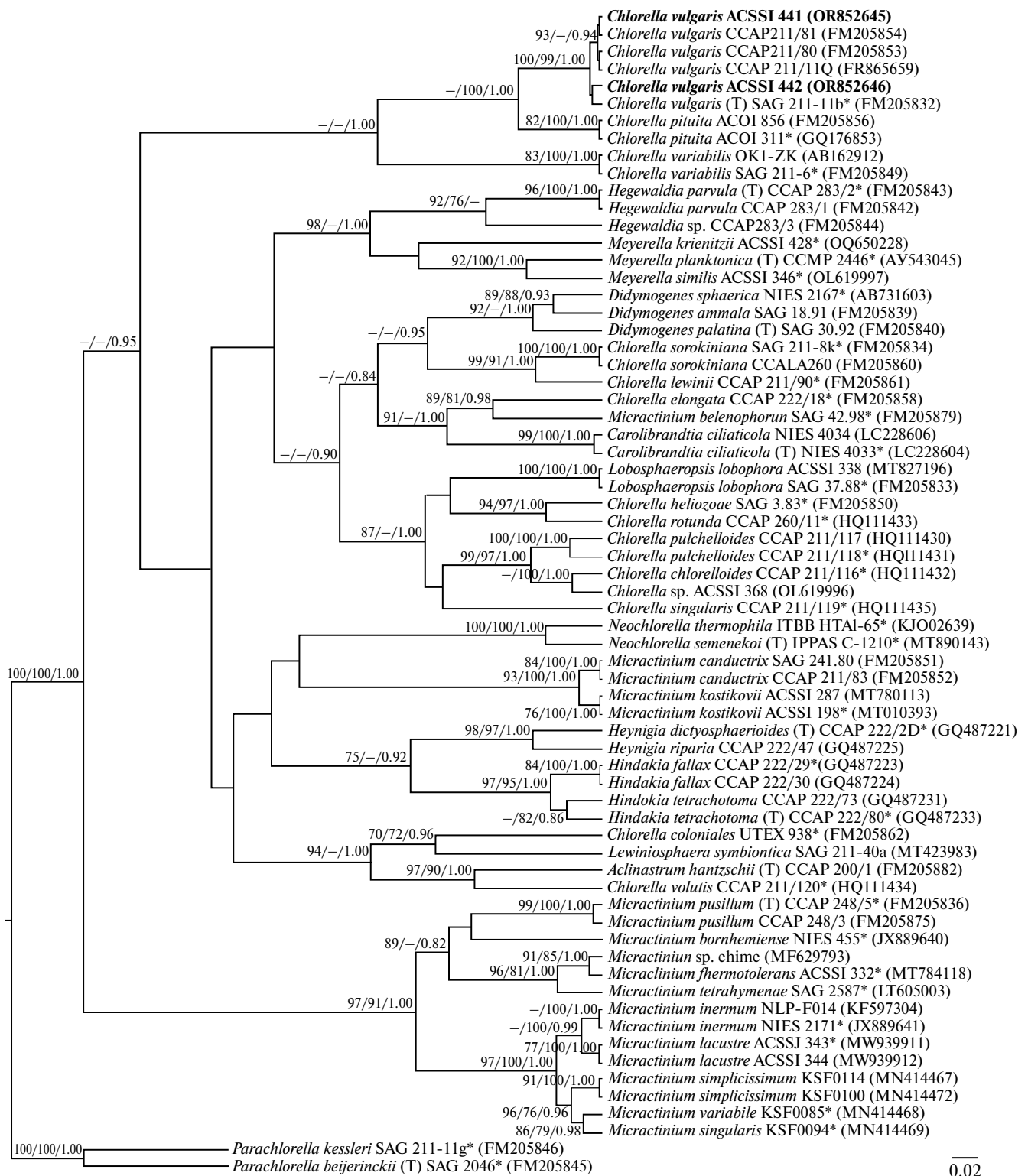


Рис. 5. Укорененное филогенетическое дерево зеленых микроводорослей *Stichococcus*-клады, построенное методом Байеса, на основе последовательностей внутреннего транскрибируемого спейсера ITS2 (375 н.). В качестве статистической поддержки узлов дерева указаны значения SH-aLRT/PP. Значения SH-aLRT и PP менее 70% и PP менее 0.7 не указаны. Модель нуклеотидных замен: HKY + F+ G4. Обозначения: * — аутентичные штаммы; (T) — типовый вид.



0.02

Рис. 6. Укорененное филогенетическое дерево зеленых микроводорослей клады *Chlorella*, построенное методом Байеса, на основе последовательностей внутреннего транскрибируемого спейсера ITS2 (287 н.). В качестве статистической поддержки узлов дерева указаны значения SH-aLRT/BP/PP. Значения SH-aLRT и BP менее 70% и PP менее 0.7 не указаны. Модель нуклеотидных замен: TIM2 + F + I + G4. Обозначения: * — аутентичные штаммы; (T) — типовой вид.

размер 6×3.3 мкм при отношении длины к ширине 1.8. Хлоропласт один, пристенный, без пиреноида. В клетках хорошо заметны липидные капли. Образование нитей в культуре не наблюдали. Размножение осуществлялось вегетативным делением клеток. Штамм ACSSI 439 имел сходную морфологию: цилиндрические клетки с закругленными концами, иногда искривленные или расширенные с одной из сторон. Размеры клеток $4.8\text{--}14$ (-28) $\times$ $3.4\text{--}4.6$ мкм. Средний размер 7.8×4.3 мкм при отношении длины к ширине 1.8. Хлоропласт один, пристенный, без пиреноида. Характерно формирование коротких нитей из 2–4 клеток. При длительном культивировании наблюдали аэрофильную фазу — образование длинных нитей в воздухе. О подобном явлении сообщалось и в работе L. Moewus (1951). При старении культуры встречались уродливые гигантские клетки. Размножение осуществлялось вегетативным делением клеток или фрагментацией нитей. Морфологические характеристики штаммов в целом соответствует описанию вида *Pseudostichococcus monallantoides*. Однако в оригинальном описании указаны несколько меньшие размеры клеток — $4\text{--}6 \times 2\text{--}2.5$ мкм (Moewus, 1951). Кроме того, L. Moewus сообщал об образовании зооспор, что впоследствии подтверждено не было (Pröschold, Darienko, 2020; данное исследование). По итогам филогенетического анализа ITS2 штаммы ACSSI 438 и ACSSI 439 кластеризовались с представителями *Pseudostichococcus monallantoides* с высокими статистическими поддержками (рис. 5). При этом генетические различия с аутентичным штаммом SAG 380-1 отсутствовали, CBCs, соответственно, тоже. На основе этого штаммы ACSSI 438 и ACSSI 439 были отнесены к виду *P. monallantoides*.

***Chromochloris zofingiensis* ACSSI 437 (Резаксайские овраги).** Клетки одиночные, зрелые — шаровидные, молодые и автоспоры — шаровидные, яйцевидные или полигональные (рис. 2е). Диаметр зрелых клеток — до 11 мкм, автоспор — от 3.5 мкм. Хлоропласт один пристенный, в молодых клетках — чашевидный, в зрелых — почти поло-сферический, лопастной или с неровными краями, или разделенный на многоугольные диски, без пиреноида. Размножение 2–4 автоспорами. При длительном культивировании (более 6 мес.) отмечено наличие оранжевых липидных капель, что свидетельствует о накоплении вторичных каротиноидов. В целом штамм соответствует описанию вида *Chromochloris zofingiensis* (Андреева, 1998; Fucíková, Lewis, 2012). Филогенетический анализ с использованием ITS2 показал, что штамм ACSSI 437 принадлежит виду *Chromochloris zofingiensis* (рис. 7а). Это также подтверждается низким уровнем генетических различий с аутентичным штаммом SAG 211-14 (0.6%) и отсутствием CBCs.

***Pseudomuriella schumacherensis* ACSSI 444 (Резаксайские овраги).** Клетки одиночные, шаровидные или слегка неправильной формы, 6–20 мкм в диаметре (рис. 2ж). Хлоропласт один, пристенный, без пиреноида, в молодых клетках разделенный на две доли, в зрелых — на несколько сегментов. Запасные вещества — оранжевые липидные капли. Бесполое размножение путем образования автоспор (от 2 штук в материнском спорангии), иногда разного размера. В целом соответствует описанию вида *Pseudomuriella schumacherensis*. Однако в диагнозе приводятся меньшие размеры зрелых клеток в культуре — до 11 мкм. Кроме того, мы не наблюдали образование апланоспор и зооспор. Результаты филогенетического анализа подтвердили это предположение (рис. 7б). Генетические дистанции между исследуемым штаммом и аутентичным штаммом *P. schumacherensis* UTEX 2252 были равны 0.5%, что соответствовало внутривидовому уровню различий. Межвидовые генетические дистанции в рамках рода *Pseudomuriella* составляют 1.6–21%. CBCs также не обнаружены.

***Deuterostichococcus epilithicus* ACSSI 440 (Левые холмы).** Клетки цилиндрические с закругленными концами, иногда слегка искривленные (рис. 2з). Размеры клеток $6\text{--}23 \times 3.9\text{--}4.8$ мкм. Средний размер 8.6×4.6 мкм при отношении длины к ширине 1.9. Хлоропласт один, пристенный, с голым пиреноидом. Изредка в культуре наблюдали короткие нити из двух клеток. Размножение осуществлялось вегетативным делением клеток или фрагментацией нитей. В целом соответствует описанию вида *Deuterostichococcus epilithicus* (Pröschold, Darienko, 2020), однако для нашего штамма характерны несколько большие размеры клеток. Исследуемый штамм ACSSI 440 вошел в состав группы, объединяющей представителей *Deuterostichococcus epilithicus* (рис. 5) с высоким уровнем статистической поддержки. Генетические дистанции с аутентичным штаммом SAG 2060 составили 1.4%. Для сравнения, внутривидовые генетические дистанции у других представителей рода *Deuterostichococcus* составляли от 0 до 3.5%, межвидовые — от 23 до 29%. CBCs между ACSSI 440 и SAG 2060 отсутствовали. Таким образом, штамм ACSSI 440 был отнесен к виду *Deuterostichococcus epilithicus*.

***Bracteacoccus* sp. ACSSI 443 (Левые холмы).** Клетки одиночные, шаровидные, 4–40 мкм в диаметре (рис. 2и). Клеточная оболочка с возрастом утолщается до 2.3 мкм. В молодых клетках по 2–4 хлоропласта, в зрелых — многочисленные, без пиреноидов. Запасные вещества — оранжевые липидные капли. Бесполое размножение путем образования автоспор (от 4 штук в материнской клетке), зооспорогенез в культуре не наблюдали. В целом соответствует описанию вида *Bracteacoccus minor* (Андреева, 1998). Штамм ACSSI 443 объединился с представителями

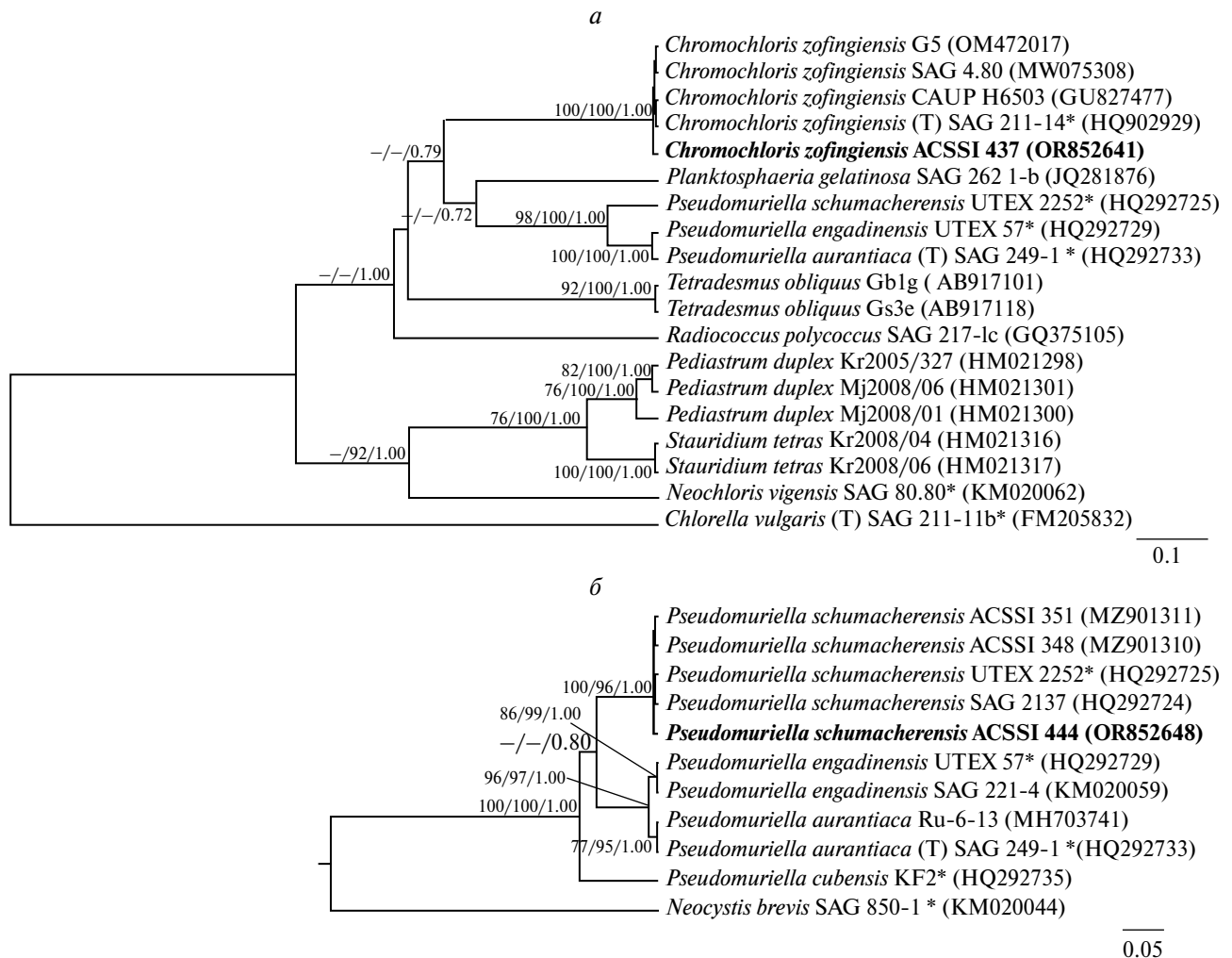


Рис. 7. Укорененные филогенетические деревья зеленых микроводорослей рода *Chromochloris* (а) и *Pseudomuriella* (б), построенные методом Байеса, на основе последовательностей внутреннего транскрибируемого спейсера ITS2 (321 и 280 н., соответственно). В качестве статистической поддержки узлов дерева указаны значения SH-aLRT/PP/PP. Значения SH-aLRT и PP менее 70% и PP менее 0.7 не указаны. Модель нуклеотидных замен: TIM2 + G4 и TNe + G4, соответственно. Обозначения: * — аутентичные штаммы; (T) — типовой вид.

B. aggregatus, *B. occidentalis*, *B. minor*, *B. medionucleatus*, *B. grandis* с высокой статистической поддержкой в один кластер (рис. 8).

Уровень генетических различий ITS2 между исследуемым штаммом и остальными представителями кластера варьировал от 1 до 2.2%. CBCs отсутствовали. Систематика рода *Bracteacoccus* сложна: диапазоны межвидовых и межродовых генетических различий перекрываются. Так, внутривидовые дистанции, как правило, составляли 0–1.6%. Однако между штаммами внутри вида *B. glacialis* — 4.8%, *B. aerius* — 8.2%. Межвидовые дистанции колебались 0–30.7%. Например, между *B. minor* и *B. grandis* генетические различия в ITS2 отсутствовали. В связи с этим данный штамм был идентифицирован как *Bracteacoccus* sp.

Особенности альгофлоры эродированных почв

Верхний горизонт почв всех трех районов исследования вследствие высокой степени эродированности и изреженности растительного покрова являлся малоплодородным, с нейтральными значениями pH, низким содержанием гумуса, аммонийного азота, подвижного фосфора и калия (Тухтабоева и соавт., 2023). Изученные штаммы зеленых микроводорослей принадлежали классам Chlorophyceae (*Chlorosarcinopsis*, *Chromochloris*, *Pseudomuriella*, *Bracteacoccus*) и Trebouxiophyceae (*Chlorella*, *Tetradostichococcus*, *Pseudostichococcus*, *Deuterostichococcus*). Единственный штамм харофитовых микроводорослей *Klebsormidium* sp. — отнесен к классу Klebsormidiophyceae. Невысокое видовое

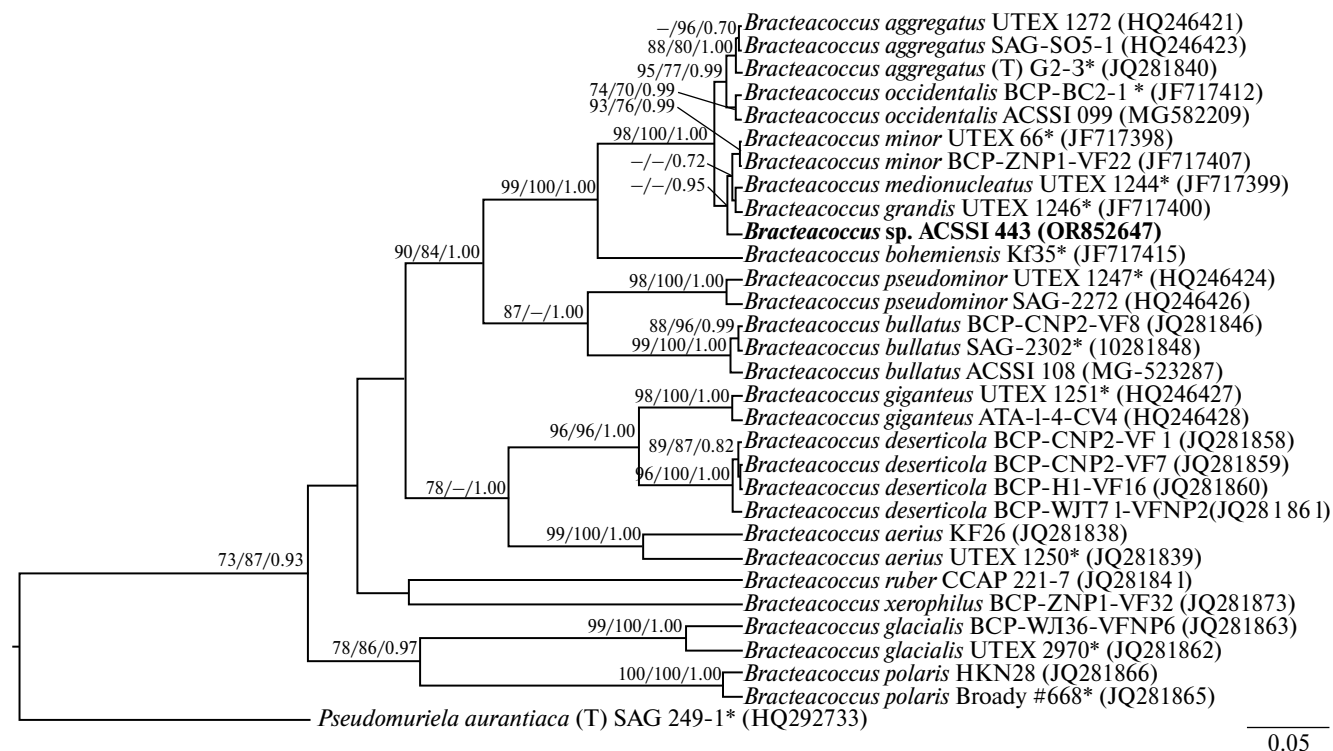


Рис. 8. Укорененное филогенетическое дерево зеленых микроводорослей рода *Bracteacoccus*, построенное методом Байеса, на основе последовательностей внутреннего транскрибируемого спейсера ITS2 (347 н.). В качестве статистической поддержки узлов дерева указаны значения SH-aLRT/BP/PP. Значения SH-aLRT и BP менее 70% и PP менее 0.7 не указаны. Модель нуклеотидных замен: GTR + F + G4. Обозначения: * – аутентичные штаммы; (T) – типовый вид.

разнообразие микроводорослей – 11 штаммов, принадлежащих 8 родам, 3 классам и 2 отделам, можно объяснить как нестабильными условиями окружающей среды, вызванными постоянной водной эрозией исследованных почв на крутых склонах, так и особенностями культурального подхода. Последний занижает реальное богатство микроводорослей, сводя его к культивируемому разнообразию, что составляет лишь небольшую часть от реального (Langhans et al., 2009). Так, при сравнении данных высокопроизводительного секвенирования с данными, полученными при микроскопии культур микроводорослей почвенных биокорочек Шпицбергена и острова Ливингстон, богатство (на уровне родов) различалось в 11 раз (Rippin et al., 2018).

Полученные штаммы микроводорослей имеют космополитное распространение во многих наземных и(или) пресноводных экосистемах (Ettl, Gärtner, 1995; Андреева, 1998). Многие из них, а именно представители родов *Klebsormidium*, *Chlorosarcinopsis*, *Chlorella*, *Bracteacoccus*, *Pseudomuriella*, *Pseudostichococcus* были отмечены в составе альгофлоры эродированных почв и почвенных биокорочек холодных, засушливых,

засоленных, загрязненных местообитаний (Дубовик, 1995, 2004; Pluis, 1994; Evans, Johansen, 1999; Lukešová, 2001; Fischer, Subbotina, 2014; Karsten et al., 2016; Sommer et al., 2020; Rybalka et al., 2023). Нитчатые (*Klebsormidium*) и сарциноидные/псевдонитчатые (*Chlorosarcinopsis*) водоросли стабилизируют почвенные частицы, склеивая их вместе за счет выделения слизи. Они обычно встречаются в небольшом разнообразии, но могут производить высокую биомассу. Коккоидные водоросли (в нашем исследовании это *Chlorella*, *Chromochloris*, *Pseudomuriella*, *Bracteacoccus*, *Tetrastichococcus*, *Pseudostichococcus*, *Deuterostichococcus*) прикрепляются к частицам почвы и обычно встречаются с более высоким разнообразием, но с меньшей биомассой (Büdel et al., 2016). Пустынные и другие наземные зеленые водоросли представляют собой микроскопические, в основном одноклеточные шаровидные или палочковидные формы диаметром 10–50 мкм, в некоторых случаях образуют небольшие клеточные агрегаты (Cardon et al., 2008). Колонизировать эродированные почвы микроводоросли могут с помощью различных адаптаций. К ним относится способность к вторичному каротиногенезу зеленых микроводорослей родов *Chromochloris*,

Pseudomuriella и *Bracteacoccus*, которая является защитным механизмом против неблагоприятных условий окружающей среды, например, яркого света, недостатка питательных веществ, образования активных форм кислорода, осмотического стресса и др. (Chekanov, 2023). Для членов *Prasiolacлады*, в которую входят роды *Tetratostichococcus*, *Pseudostichococcus* и *Deuterostichococcus* (Karsten et al., 2005), а также рода *Klebsormidium* (Kitzing et al., 2014; Hartmann et al., 2020), показана способность к продукции микоспорин-подобных аминокислот, которые защищают клетки от ультрафиолетового излучения и окислительного повреждения при высокой инсоляции, дефиците влаги, осмотическом и тепловом стрессах. Кроме того, перечисленные роды микроводорослей были устойчивы к высушиванию (Holzinger et al., 2014; Van, Glaser, 2022).

Более того, некоторые из описанных таксонов были ранее обнаружены в экосистемах Узбекистана. Так, представители рода *Klebsormidium* были неоднократно описаны, например, *K. dissectum* (как *Hormidium dissectum*) — в почвах виноградников (Мусаев, 1960), в почвах пустыни Кызылкум (Троицкая, 1961), *K. flaccidum* (как *H. flaccidum*) и *K. nitens* (как *H. nitens*) — в пахотных и целинных почвах (Бут, 1959; Мусаев, 1960; Троицкая, 1961), *K. rivulare* (как *H. rivulare*) — в почвах пустыни Кызылкум (Троицкая, 1961), *K. subtile* (как *H. subtile* и *Ulothrix subtilissima*) — в почвах рисовых полей, болотах (Киселев, 1931) и в пахотных почвах (Мусаев, 1960; Мухамедиев, 1960), в почвах пустыни Кызылкум (Троицкая, 1961) соответственно. *Stichococcus*-подобные таксоны также встречались в почвах пахотных полей и садов (Мусаев, 1960), в почвах пустыни Кызылкум (Троицкая, 1961). Зеленая водоросль *Chlorella vulgaris* была обнаружена во многих почвах (Бут, 1959; Мусаев, 1960; Троицкая, 1961; Умарова, 1964), представители *Chlorosarcinopsis*, например, *Chlorosarcinopsis angulosa* (как *Chlorosphaera angulosa*) встречались редко (Троицкая, 1961; Музафаров, 1965), как и *Bracteacoccus*, например, *B. anomalus* (как *Pleurochloris anomala*) — только в городских почвах (Mamasoliev, 2019). Упоминаний об обнаружении видов *Chromochloris* и *Pseudomuriella* в наземных и водных биотопах Узбекистана не найдено. Однако стоит отметить, что все перечисленные таксоны микроводорослей были определены на основе морфологии, что исключает точность и надежность такой идентификации.

Таким образом, впервые изучено культивируемое разнообразие микроводорослей эродированных почв северной части Ферганской долины (Узбекистан) на основе морфологического и молекулярно-генетического анализов. Было обнаружено 10 штаммов зеленых микроводорослей (Chlorophyta) и 1 — харофитовых (Charophyta). Только 7 штаммов микроводорослей было определено до вида: *Chlorella vulgaris*,

Chromochloris zofingiensis, *Deuterostichococcus epilithicus*, *Pseudomuriella schumacherensis* и *Pseudostichococcus monallantoides*. Еще 4 штамма идентифицированы только до рода и нуждаются в дальнейших исследованиях: *Bracteacoccus* sp., *Chlorosarcinopsis* sp., *Klebsormidium* sp. и *Tetratostichococcus* sp. Невысокое видовое разнообразие микроводорослей можно объяснить как эродированностью и малоплодородностью почв на склонах, так и особенностями культурального подхода, выявляющего только часть от реального разнообразия микроорганизмов. Колонизировать эродированные почвы в условиях засушливой предгорной зоны микроводоросли могут с помощью различных адаптаций: мелкие клеточные размеры, продукция внеклеточных экзополисахаридов, микоспорин-подобных аминокислот и вторичных каротиноидов. Проведенное исследование может стать основой для дальнейшей разработки высокофункциональных консорциумов на основе микроводорослей с целью улучшения и устойчивого развития низкопродуктивных, засушливых, деградированных наземных экосистем.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Соглашение № 075-15-2021-1051).

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность инженеру лекции АСССИ Р. Л. Бакулиной за помощь в культуральной работе.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит результатов каких-либо исследований с использованием животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Андреева В. М. Почвенные и аэрофильные зеленые водоросли (Chlorophyta: Tetrasporales, Chlorococcales, Chlorosarcinales). СПб.: Наука, 1998. 351 с.

- Бут И.П. Почвенные водоросли некоторые районов Сурхандарийской области // *Узбекский биологический журнал*. 1959. № 2. С. 26–38.
- Дубовик И.Е. Влияние овражной эрозии на развитие водорослей в лесостепных почвах Предуралья // *Почвоведение*. 2004. № 4. С. 474–479.
- Dubovik I.E. The effect of gully erosion on the diversity of algae in forest-steppe soils of the cis-Ural region // *Euras. Soil Sci.* 2004. V. 37. P. 409–414.
- Дубовик И.Е. Водоросли эродированных почв и альгологическая оценка почвозащитных мероприятий. Уфа: Изд-во Башкирского ун-та, 1995. 154 с.
- Киселев Е.И. Материалы к изучению микрофлоры рисовых полей окрестностей г. Самарканда // *Журнал Русского ботанического общества*. 1931. Т. 6. № 4. С. 20–22.
- Музафаров А.М. Флора водорослей водоемов Средней Азии. Ташкент: Изд-во “Наука” Узбекской ССР, 1965. 569 с.
- Мусаев К.Ю. Водоросли орошаемых земель и их значение для плодородия почв. Ташкент: Изд-во Академии Наук Узбекской ССР, 1960. 211 с.
- Мухамедиев А.М. Материалы к гидробиологии рисовых полей Ферганской долины // *Ученые записки Ферган. пед. института. Сер. Биол.* 1960. № 6. С. 3–75.
- Темралеева А.Д., Минчева Е.В., Букин Ю.С., Андреева А.М. Современные методы выделения, культивирования и идентификации зеленых водорослей (Chlorophyta). Кострома: Костромской печатный дом, 2014. 215 с.
- Троицкая Е.К. Водоросли основных почв юго-Западных Кызылкумов. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Ташкент, 1961. 19 с.
- Тухтабоева Ю.А., Редькина В.В., Темралеева А.Д. *Stichococcus*-подобные микроводоросли (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) в эродированных почвах Ферганской долины // *Узбекский биологический журнал*. 2023. № 4 (в печати).
- Умарова Ш.У. Водоросли хлопковых полей и влияние некоторых агротехнических факторов на развитие и распространение. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Ташкент, 1964. 25 с.
- ФАО ООН. Европейская комиссия по сельскому хозяйству. 2015 // Продовольственная и сельскохозяйственная организация ООН. URL: <https://www.fao.org/3/mo297r/mo297r.pdf> (дата обращения: 24.11.2023).
- Büdel B., Darienko T., Deutschewitz K., Dojani S., Friedl T., Mohr K.I., Salisch M., Reisser W., Weber B. Southern African biological soil crusts are ubiquitous and highly diverse in drylands, being restricted by rainfall frequency // *Microb. Ecol.* 2009. V. 57. P. 229–247. <https://doi.org/10.1007/s00248-008-9449-9>
- Caisová L., Marin B., Melkonian M. A consensus secondary structure of ITS2 in the Chlorophyta identified by phylogenetic reconstruction // *Protist*. 2013. V. 164. P. 482–496. <https://doi.org/10.1016/j.protis.2013.04.005>
- Cardon Z.G., Gray D.W., Lewis L.A. The green algal underground: evolutionary secrets of desert cells // *BioScience*. 2008. V. 58. P. 114–122. <https://doi.org/10.1641/B580206>
- Castillo-Monroy A., Maestre F., Delgado-Baquerizo M., Gallardo A. Biological soil crusts modulate nitrogen availability in semi-arid ecosystems: insights from a Mediterranean grassland // *Plant Soil*. 2010. V. 333. P. 21–34. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0276-7>
- Chekanov K. Diversity and distribution of carotenogenic algae in Europe: a review // *Mar. Drugs*. 2023. V. 21. Art. 108. <https://doi.org/10.3390/md21020108>
- Coleman A.W. Is there a molecular key to the level of “biological species” in eukaryotes? A DNA guide // *Mol. Phylogenet. Evol.* 2009. V. 50. P. 197–203. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2008.10.008>
- Costa O.Y.A., Raaijmakers J.M., Kuramae E.E. Microbial extracellular polymeric substances: ecological function and impact on soil aggregation // *Front. Microbiol.* 2018. V. 9. Art. 1636. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01636>
- Ettl H., Gärtner G. Syllabus der Boden-, Luft- und Flechtentalgen. Stuttgart: Gustav Fischer, 1995. 721 p.
- Evans R.D., Johansen J.R. Microbiotic crusts and ecosystem processes // *Crit. Rev. Plant Sci.* 1999. V. 18. P. 183–225. <https://doi.org/10.1080/07352689991309199>
- Fischer T., Subbotina M. Climatic and soil texture threshold values for cryptogamic cover development: a meta analysis // *Biologia (Bratisl.)*. 2014. V. 69. P. 1520–1530. <https://doi.org/10.2478/s11756-014-0464-7>
- Fučíková K., Lewis L.A. Intersection of *Chlorella*, *Muriella* and *Bracteacoccus*: resurrecting the genus *Chromochloris* Kol et Chodat (Chlorophyceae, Chlorophyta) // *Fottea*. 2012. V. 12. P. 83–93. <https://doi.org/10.5507/fot.2012.007>
- Fučíková K., Rada J.C., Lewis L.A. The tangled taxonomic history of *Dictyococcus*, *Bracteacoccus* and *Pseudomuriella* Chlorophyceae, Chlorophyta) and their distinction based on a phylogenetic perspective // *Phycologia*. 2011. V. 50. № 4. P. 422–429. <https://doi.org/10.2216/10-69.1>
- Glaser K., Baumann K., Leinweber P., Mikhailyuk T., Karsten U. Algal richness in BSCs in forests under different management intensity with some implications for P cycling // *Biogeosciences*. 2018. V. 15. P. 4181–4192. <https://doi.org/10.5194/bg-15-4181-2018>
- Guiry M.D., Guiry G.M. *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway, 2023. <http://www.algaebase.org>
- Hartmann A., Glaser K., Holzinger A., Ganzera M., Karsten U. Klebsormidin A and B, two new UV-sunscreen compounds in green microalgal *Interfilum* and *Klebsormidium* species (Streptophyta) from terrestrial habitats // *Front. Microbiol.* 2020 V. 11. Art. 499. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00499>
- Holzinger A., Kaplan F., Blaas K., Zechmann B., Komšić-Buchmann K., Becker B. Transcriptomics

- of desiccation tolerance in the streptophyte green alga *Klebsormidium* reveal a land plant-like defense reaction // PLoS One. 2014. V. 9. Art. e110630. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110630>
- Johnson J.L., Fawley M.W., Fawley K.P. The diversity of *Scenedesmus* and *Desmodesmus* (Chlorophyceae) in Itasca State Park, Minnesota, USA // Phycologia. 2007. V. 46. P. 214–229. <https://doi.org/10.2216/05-69.1>
- Karsten U., Friedl T., Schumann R., Hoyer K., Lembcke S. Mycosporine-like amino acids and phylogenies in green algae: *Prasiola* and its relatives from the Trebouxioephyceae (Chlorophyta) // J. Phycol. 2005. V. 41. P. 557–566. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2005.00081.x>
- Karsten U., Herburger K., Holzinger A. Living in biological soil crust communities of African deserts – Physiological 20 traits of green algal *Klebsormidium* species (Streptophyta) to cope with desiccation, light and temperature gradients // J. Plant Physiol. 2016. V. 194. P. 2–12. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2015.09.002>
- Kitzing C., Pröschold T., Karsten U. UV-induced effects on growth, photosynthetic performance and sun-screen contents in different populations of the green alga *Klebsormidium fluitans* (Streptophyta) from alpine soil crusts // Microb. Ecol. 2014. V. 67. P. 327–340. <https://doi.org/10.1007/s00248-013-0317-x>
- Krivina E.S., Bobrovnikova L.A., Temraleeva A.D., Markelova A.G., Gabrielyan D.A., Sinetova M.A. Description of *Neochlorella semenenkoi* gen. et sp. nov. (Chlorophyta, Trebouxioephyceae), a novel Chlorella-like alga with high biotechnological potential // Diversity. 2023. V. 15. Art. 513. P. 1–22. <https://doi.org/10.3390/d15040513>
- Langhans T.M., Storm C., Schwabe A. Community assembly of biological soil crusts of different successional stages in a temperate sand ecosystem, as assessed by direct determination and enrichment techniques // Microb. Ecol. 2009. V. 58. P. 394–407. <https://doi.org/10.1007/s00248-009-9532-x>
- Lu Q., Xiao Y., Lu Y. Employment of algae-based biological soil crust to control desertification for the sustainable development: a mini-review // Algal Res. 2022. V. 65. Art. 102747. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102747>
- Lukešová A. Soil algae in brown coal and lignite post-mining areas in Central Europe (Czech Republic and Germany) // Restor. Ecol. 2001. V. 9. P. 341–350. <https://doi.org/10.1046/j.1526-100X.2001.94002.x>
- Mamasoliev S.T. Soil algae of urban ecosystems (on the example of Andijan). Avtoreferat dis. Namangan, 2019. 25 p.
- McManus H.A., Lewis L.A. Molecular phylogenetic relationships in the freshwater family Hydrodictyaceae (Sphaeropleales, Chlorophyceae), with an emphasis on *Pediastrum duplex* // J. Phycol. 2011. V. 47. P. 152–163. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2010.00940.x>
- Metting B. The systematics and ecology of soil algae // Bot. Rev. 1981. V. 47. P. 195–312. <https://doi.org/10.1007/BF02868854>
- Mikhailyuk T., Glaser K., Holzinger A., Karsten U., Gabrielson P. Biodiversity of *Klebsormidium* (Streptophyta) from alpine biological soil crusts (Alps, Tyrol, Austria, and Italy) // J. Phycol. 2015. V. 51. P. 750–767. <https://doi.org/10.1111/jpy.12316>
- Mikhailyuk T., Glaser K., Tsarenko P., Demchenko E., Karsten U. Composition of biological soil crusts from sand dunes of the Baltic Sea coast in the context of an integrative approach to the taxonomy of microalgae and cyanobacteria // Eur. J. Phycol. 2019. V. 54. P. 263–290. <https://doi.org/10.1080/09670262.2018.1557257>
- Moewus L. Systematische Bestimmung einzelliger grüner Algen auf Grund von Kulturversuchen (*Sphaerosorus composita*, *Oocystis marina* und *Pseudostichococcus monallantoides*) // Botaniska Notiser. 1951. P. 287–318.
- Neustupa J., Eliáš M., Sejnohová L. A taxonomic study of two *Stichococcus* species (Trebouxioephyceae, Chlorophyta) with a starch-enveloped pyrenoid // Nova Hedwigia. 2007. V. 84. P. 51–63. <https://doi.org/10.1127/0029-5035/2007/0084-005>
- Perera I., Subashchandrabose S.R., Venkateswarlu K., Naidu R., Megharaj M. Consortia of cyanobacteria/microalgae and bacteria in desert soils: an underexplored microbiota // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2018. V. 102. P. 7351–7363. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9192-1>
- Pluis J.L.A. Algal crust formation in the inland dune area, Laarder Wasmeer, the Netherlands // Vegetatio. 1994. V. 113. P. 41–51. <https://doi.org/10.1007/BF00045462>
- Pröschold T., Darienko T. The green puzzle *Stichococcus* (Trebouxioephyceae, Chlorophyta): New generic and species concept among this widely distributed genus // Phytotaxa. 2020. V. 441. P. 113–142. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.441.2.2>
- Rabiei A., Zomorodian S.M.A., O’Kelly B.C. Reducing the erodibility of sandy soils engineered by cyanobacteria inoculation: a laboratory investigation // Sustainability. 2023. V. 15. Art. 3811. <https://doi.org/10.3390/su15043811>
- Rindi F., Mikhailyuk T.I., Sluiman H.J., Friedl T., López-Bautista J.M. Phylogenetic relationships in *Interfilum* and *Klebsormidium* (Klebsormidiophyceae, Streptophyta) // Mol. Phylogenet. Evol. 2011. V. 58. P. 218–231. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2010.11.030>
- Rippin M., Borchhardt N., Williams L., Colesie C., Jung P., Büdel B., Karsten U., Becker B. Genus richness of microalgae and Cyanobacteria in biological soil crusts from Svalbard and Livingston Island: morphological versus molecular approaches // Polar Biol. 2018. V. 41. P. 909–923. <https://doi.org/10.1007/s00300-018-2252-2>

- Rybalka N., Blanke M., Tzvetkova A., Noll A., Roos C., Boy J., Boy D., Nimptsch D., Godoy R., Friedl T. Unrecognized diversity and distribution of soil algae from Maritime Antarctica (Fildes Peninsula, King George Island) // *Front. Microbiol.* 2023. V. 14. Art. 118747.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1118747>
- Samolov E., Mikhailyuk Y., Lukešová A., Glaser K., Büdel B., Karsten U. Usual alga from unusual habitats: biodiversity of *Klebsormidium* (Klebsormidiophyceae, Streptophyta) from the phylogenetic superclade G isolated from biological soil crusts // *Mol. Phyl. Evol.* 2019. V. 133. P. 236–255.
<https://doi.org/10.1016/j.ympev.2018.12.018>
- Seitz S., Nebel M., Goebes P., Käppeler K., Schmidt K., Shi X., Song Z., Webber C.L., Weber B., Scholten T. Bryophyte-dominated biological soil crusts mitigate soil erosion in an early successional Chinese subtropical forest // *Biogeosci.* 2017. V. 14. P. 5775–5788.
<https://doi.org/10.5194/bg-14-5775-2017>
- Sommer V., Karsten U., Glaser K. Halophilic algal communities in biological soil crusts isolated from potash tailings pile areas // *Front. Ecol. Evol.* 2020. V. 8. Art. 46.
<https://doi.org/10.3389/fevo.2020.00046>
- Van A. T., Glaser K. *Pseudostichococcus* stands out from its siblings due to high salinity and desiccation tolerance // *Phycology.* 2022. V. 2. P. 108–119.
<https://doi.org/10.3390/phycology2010007>
- Xiao R., Zheng Y. Overview of microalgal extracellular polymeric substances (EPS) and their applications // *Biotechnol. Adv.* 2016. V. 34. P. 1225–1244.
<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2016.08.004>

EXPERIMENTAL ARTICLES

Microalgae from Eroded Soils in the Northern Fergana Valley, Uzbekistan

Yu. A. Tukhtaboeva¹, E. S. Krivina², V. V. Red'kina², and A. D. Temraleeva^{2,*}

¹Namangan State University, Namangan, 160119 Uzbekistan

²All-Russian Collection of Microorganisms (VKM), Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms, Pushchino Scientific Center for Biological Research, Russian Academy of Sciences, Pushchino, 142290 Russia

*e-mail: temraleeva.anna@gmail.com

Received December 1, 2023; revised January 26, 2024; accepted February 8, 2024

Abstract. For the first time, the cultivated diversity of microalgae in eroded soils in the northern part of the Fergana Valley in Uzbekistan has been studied based on both morphological and molecular genetic analysis. Ten strains of green microalgae (*Chlorophyta*) and one *Charophyta* strain were revealed. Only seven strains could be identified at the species level: *Chlorella vulgaris*, *Chromochloris zofingiensis*, *Deuterostichococcus epilithicus*, *Pseudomuriella schumacherensis*, and *Pseudostichococcus monallantoides*. Another four strains were identified only at the genus level and require further study: *Bracteacoccus* sp., *Chlorosarcinopsis* sp., *Klebsormidium* sp., and *Tetrastichococcus* sp. The low species diversity in the microalgae is likely due to both the low fertility of the eroded soils on the slopes, and the limitations of the culture-based approach that only reveals a fraction of the overall microbial diversity. Microalgal colonization of eroded soils in the arid foothill zone can be facilitated by various adaptations, such as small cell size and the production of extracellular polysaccharides, mycosporine-like aminoacids, and secondary carotenoids. The present work may contribute to the further development of highly functional microalgae-based consortia, which can lead to improvements and sustainable development of low-productivity, arid, and degraded terrestrial ecosystems.

Keywords: microalgae, diversity, morphology, *rbcL*, ITS2, soils, erosion

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

МИКРОВОДОРОСЛИ ЭРОДИРОВАННЫХ ПОЧВ СЕВЕРНОЙ ЧАСТИ ФЕРГАНСКОЙ ДОЛИНЫ, УЗБЕКИСТАН

© 2024 г. Ю. А. Тухтабоева^a, Е. С. Кривина^b, В. В. Редькина^b, А. Д. Темралеева^{b, *}

^aНаманганский государственный университет, Наманган, 160119, Узбекистан

^bВсероссийская коллекция микроорганизмов (ВКМ),

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, ФИЦ ПНЦБИ РАН,
Пущино, 142290, Россия

*e-mail: temraleeva.anna@gmail.com

