

УДК 579.26

ЦИАНОБАКТЕРИИ В ГИПОЛИТНЫХ ГОРИЗОНТАХ ПОЧВ ОАЗИСА ЛАРСЕМАНН, ВОСТОЧНАЯ АНТАРКТИДА

© 2023 г. Н. В. Величко^а, *, Д. Е. Рабочая^а, А. В. Долгих^б, Н. С. Мергелов^б^аСанкт-Петербургский государственный университет,
Университетская наб., 7/9, Санкт-Петербург, 199034 Россия^бИнститут географии РАН, Старомонетный пер., 29, Москва, 119017 Россия

*e-mail: n.velichko@spbu.ru

Поступила в редакцию 20.12.2022 г.

После доработки 05.04.2023 г.

Принята к публикации 06.04.2023 г.

Проведен анализ биологического разнообразия почвенных антарктических цианобактерий в гиполитных органо-аккумулятивных горизонтах оазиса Ларсеманн (Восточная Антарктида). С помощью исследования стекол обрастания методами световой и конфокальной микроскопии, а также флуоресцентной *in situ* гибридизации показано, что в верхних слоях антарктических подкаменных сообществ среди цианобактерий преобладают нитчатые формы. Для уточнения их таксономического статуса из образцов почв были выделены штаммы родов: *Nostoc*, *Halotia*, *Leptolyngbya*, *Plectolyngbya*, *Phormidesmis*, а также некоторые новые и ранее не описанные представители антарктических цианобактерий. Штаммы впервые сформированной уникальной рабочей коллекции почвенных цианобактерий были идентифицированы в соответствии с современными методами полифазной таксономии на основании анализа комплекса морфологических и молекулярно-генетических признаков. Результаты филогенетического анализа нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК и особенности организации вторичных структур внутренних транскрибируемых спейсеров рибосомального оперона позволили выявить среди штаммов коллекции новые таксоны потенциально эндемичных цианобактерий. Высокий уровень сходства последовательностей гена 16S рРНК почвенных цианобактерий с ранее обнаруженными в водоемах оазиса Ларсеманн подтверждает их способность распространяться за пределы отдельных экологических ниш и пластично адаптироваться к контрастным природным условиям.

Ключевые слова: почвенные биопленки, стекла обрастания, FISH, лабораторные культуры, 16S рРНК, вторичные структуры 16S–23S ITS, эндемизм

DOI: 10.31857/S0032180X2260161X, **EDN:** OIASRM

ВВЕДЕНИЕ

Наземные экосистемы Антарктиды в присутствии редкого растительного покрова формируются под воздействием экстремальных климатических факторов преимущественно сообществами микроорганизмов [13, 14, 57]. Это позволяет их рассматривать в качестве современных аналогов реликтовых докембрийских биогеоценозов [6, 9, 14, 44–47]. “Горячими точками” биологического разнообразия в антарктических экосистемах являются оазисы – свободные ото льда участки суши, в которых кислородные фототрофные микроорганизмы (цианобактерии и эукариотические микроводоросли) часто выступают доминирующим компонентом и основным продуцентом органического вещества в водных и наземных альго-бактериальных сообществах [4, 14, 49, 58]. В крупных озерах и мелких водоемах Антарктиды они представлены в виде бентосных и литораль-

ных матов, в наземных местообитаниях – встречаются в виде эпи- и эндолитных биопленок на каменистых субстратах, а в почвах они формируют органо-аккумулятивные горизонты [10, 13, 14, 19, 48, 57, 59]. Последние часто располагаются под верхним слоем камней и щебня (каменными мостовыми), в так называемых гиполитных (от греч. *hypo* – под, *lithos* – камень) экологических нишах [14, 18, 40, 41]. Каменные мостовые можно обнаружить во влажных долинах антарктических оазисов или в наскальных ваннах. Они обеспечивают микроорганизмам защиту от таких неблагоприятных факторов, как сильный ветер, резкие перепады температур, аридность и высокий уровень ультрафиолетового излучения. Ландшафты оазисов Восточной Антарктиды детально охарактеризованы ранее [1, 13, 40]. Они классифицируются как криптогамные снежниковые пустоши [2], которые снабжаются влагой при таянии снега в весенне-летний период.

В гиполитных почвенных горизонтах Антарктиды некоторые микробные сообщества формируются при значительном участии цианобактерий [17, 22, 41, 43, 45, 55]. Известно, что кислородные фототрофные бактерии являются первичными продуцентами органического вещества, которое употребляется гетеротрофной частью микробных сообществ — хемогетеротрофными бактериями и микромицетами [13, 18, 44, 46, 47, 49]. Согласно литературным данным, в экстремальных условиях Антарктиды присутствует почвенная микробиота с короткими пищевыми цепями, которая обычно включает представителей Proteobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes, Acidobacteria, Gemmatimonadetes, Cyanobacteria и Deinococcus-Thermus [4, 14, 19, 36, 45, 46, 49]. Установлено, что их таксономический состав зависит не только от физико-химических характеристик почвы, наличия пятен растительности, географического положения и климатической зоны, но и от глубины почвенного горизонта [4, 6, 13]. Так, в верхних слоях антарктических почв могут располагаться преимущественно хемогетеротрофы (Acidobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes, Proteobacteria), наряду с фототрофными кислородными (Cyanobacteria) и аноксигенными (Chloroflexi) бактериями [14, 33, 36]. В то же время на глубине 0.5–2 м встречаются преимущественно представители Actinobacteria, Firmicutes и Betaproteobacteria [4, 9, 14].

В процессе жизнедеятельности фототрофных бактерий верхние горизонты почв становятся важным источником доступных форм органического углерода и связанного азота для гетеротрофного компонента микробиоты, а также мхов, лишайников и некоторых покрытосеменных растений, изредка встречающихся в антарктических оазисах [10, 17]. Благодаря микроорганизмам органическое вещество участвует в процессах биохимического выветривания, новообразования минералов и оструктурировании минеральной массы в целом [13]. Непосредственное участие в почвообразовательных процессах принимают и почвенные цианобактерии. Однако их биологическое разнообразие до сих пор изучено недостаточно, поскольку базируется либо на описании их морфологических признаков в природных условиях [19, 44, 58–61], либо методами метабаркодинга фрагментов гена 16S рРНК [4, 33, 36, 46, 47]. При этом практически отсутствуют работы, посвященные выделению антарктических цианобактерий из почв в лабораторные культуры и их описанию с помощью современного полифазного подхода [15, 31]. В представленной работе впервые комплексно изучен таксономический состав антарктических цианобактерий в гиполитных горизонтах оазиса Ларсеманн *in situ* с помощью стекловых образцов Холодного-Росси и *in vitro* — на лабораторных культурах, выделенных из образцов почв.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

В оазисе Ларсеманн были исследованы псаммоземы (Cryosol (Arenic)) с гиполитными органомассулятивными горизонтами, которые сформировались в малых и крупных формах: на скальных ваннах и межгорных долинах (рис. 1). Краткое описание объектов исследования приведено в табл. 1. Подробная характеристика мест закладки стекловых образцов (заложенных к.г.н. Н.С. Мергеловым), а также описание эксперимента и почв по WRB [24] опубликованы ранее [3, 41]. В скальных ваннах (точки 1 и 2) таксономический состав цианобактерий изучали как в почвенных образцах, из которых выделяли лабораторные культуры, так и на «стеклах обрастания». Последние представляют собой стерильные предметные стекла размером 75 × 25 мм, которые закладывали в вертикальном положении непосредственно под дневной поверхностью на глубину, равную ширине стекла, и экспонировали в гиполитных горизонтах в течение 4 лет. В днище долины (точка 3) таксономический состав цианобактерий исследовали только в лабораторных культурах, выделенных из образцов гиполитных горизонтов. По сравнению с скальными ваннами, днище долины представляет собой более влажное местообитание за счет интенсивного питания талыми водами от крупного снежника. Гиполитные органомассулятивные горизонты микробного генезиса имеют здесь большую мощность. Обломочный материал каменных мостовых в долине формируется в том числе за счет поступления десквамационных плиток с близко расположенных выходов скальных пород (гнейсов и гранитов). Такие плитки (точка 4) часто содержат эпилитные и эндолитные альгобактериальные биопленки [26], которые могут пополнять пул бактерий каменной мостовой и нижележащих гиполитных горизонтов. Этот объект также использовали в работе. Образцы почв, пород и стекловых образцов транспортировали в замороженном состоянии, а затем изучали с помощью световой и конфокальной микроскопии, флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) [7] и культурально-микробиологическими методами [50].

Изучение таксономического состава почвенных цианобактерий *in situ*. Морфологический анализ материала проводили с помощью светового микроскопа Leica DM2500, оснащенного цифровой камерой. При этом на поверхности некоторых стекловых образцов цианобактерии располагались неравномерно и иногда встречались только в верхней части. Чтобы сделать их доступными для микроскопирования, материал со стекловых образцов счищали одноразовым лезвием, такие препараты изучали отдельно.

Кроме методов световой микроскопии, биоразнообразие почвенных цианобактерий визуализировали с помощью гибридизации 16S рРНК

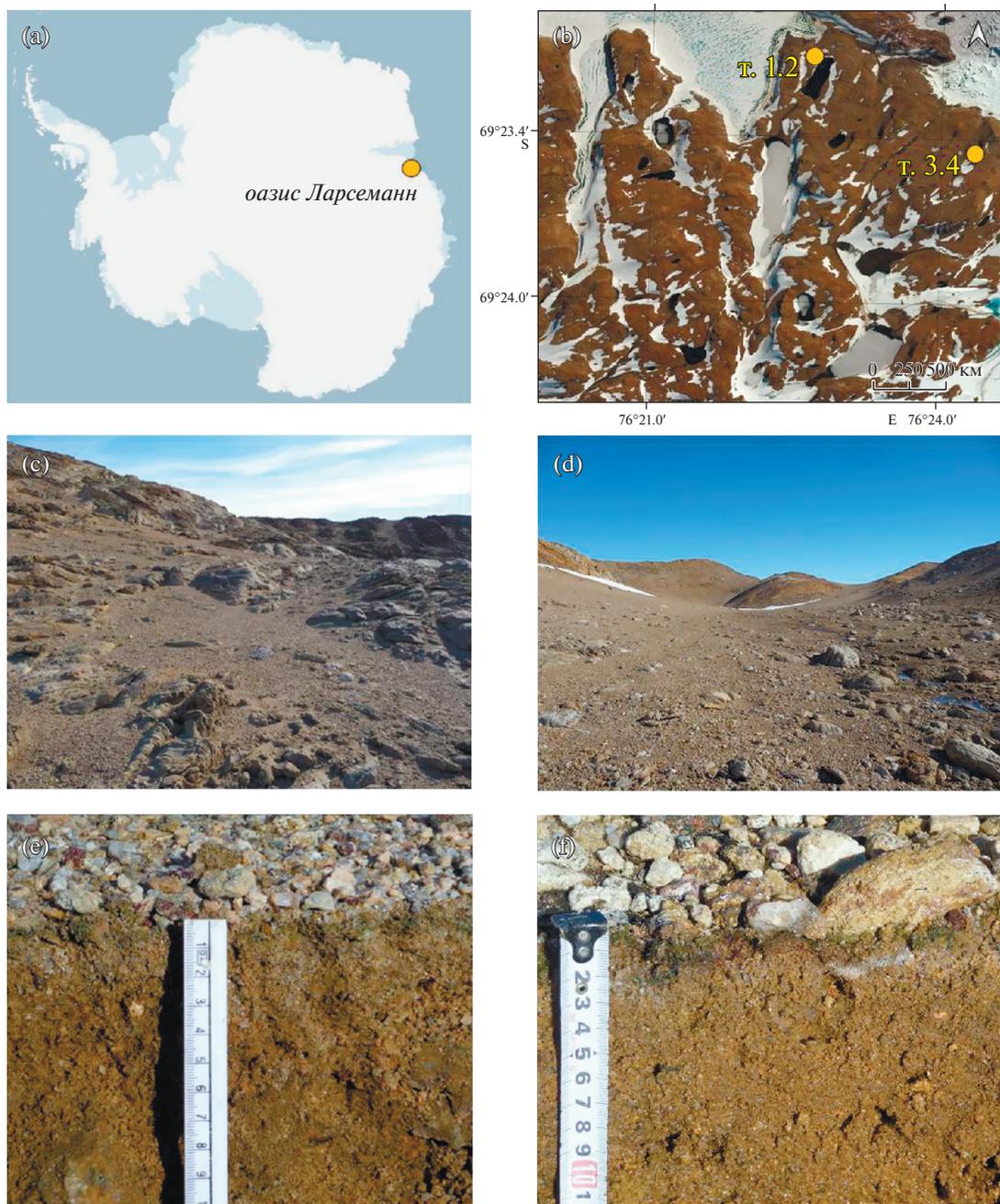


Рис. 1. Объекты исследования: а, b — расположение оазиса и точек отбора образцов, с — наскальные ванны (точки 1 и 2), d — влажная долина (точки 3 и 4), е, f — примеры профилей псаммоземов с гиполитными органо-аккумулятивными горизонтами в точках 1 и 3 соответственно.

бактерий на стеклах со специфическими флуоресцирующими олигонуклеотидными зондами [5, 20]. Для этого материал на стеклах фиксировали 2%-ным раствором параформальдегида в фосфатно-солевом буфере (PBS), содержащем 137 мМ NaCl, 2.7 мМ KCl, 1.8 мМ KH_2PO_4 , 10 мМ Na_2HPO_4 (рН 7.4), при 10°C, 2 ч. Затем фиксированный материал отмывали буфером PBS, подсушивали 30 мин при 37°C и обезвоживали в серии этиловых спир-

тов возрастающей концентрации (70, 80, 96 и 100%). Подсушенный материал гибридизовали с короткими специфическими для 16S рРНК нуклеотидными последовательностями — зондами EUB338I (для визуализации эубактерий) и CYA361/CYA762 (для детекции цианобактерий), конъюгированными с флуорохромными красителями AlexaFluor©488, AlexaFluor©533 и AlexaFluor©750 [30, 37]. Гибридизацию проводили при 46°C в буфере, содержа-

Таблица 1. Краткое описание объектов исследования

Номер точки	Координаты	Биотоп	Материал	Штамм
1	69.38433° S, 76.37700° E	Сухая наскальная ванна (соответствует т. 9 по [3])	Гиполитный органо-аккумулятивный горизонт псаммозема (2 образца) + стекла обрастания	PS24-1 PS27-2.1 PS27-2.2 PS27-3.2
2	69.38427° S, 76.37727° E	Наскальная ванна с увлажнением от небольшого снежника (соответствует т. 8 по [3])	Гиполитный органо-аккумулятивный горизонт псаммозема (2 образца) + стекла обрастания	PS30-1.1 PS30-1.2 PS33-1
3	69.39005° S, 76.40335° E	Днище долины с интенсивным увлажнением от большого снежника (соответствует долине 1 по [41])	Гиполитный органо-аккумулятивный горизонт псаммозема (3 образца)	15СТ-1.2 15СТ-3.1 15СТ-6 P52 P52-1.2 P52-3.2 62Т-1
4	69.38842° S, 76.40342° E	Скальное обнажение, десквамационная плитка с эндолитным сообществом (рядом с т. 3)	Эндолитный органо-аккумулятивный горизонт (1 образец)	S121

шем 25 мМ Трис-НСl, рН 8.0, 50 мМ NaCl, 0.01% SDS, 5 мМ Na₂-ЭДТА и 35%-ный формамид. После этого промывали PBS буфером и подсушивали. ДНК бактерий дополнительно окрашивали 0.1%-ным раствором 4',6-диамидино-2-фенилиндолом (DAPI) при 37°C, 1 ч. Готовые препараты исследовали с помощью лазерного сканирующего конфокального микроскопа Leica TCS-SP5 (Leica Microsystems, Германия) в РЦ СПбГУ "Хромас".

Получение лабораторных культур. Штаммы почвенных цианобактерий выделяли в лабораторные культуры с помощью стандартных микробиологических приемов [24, 50]. Для этого образцы почв инкубировали в жидкой минеральной среде BG 11 [14], при освещении лампами белого цвета с интенсивностью 10–15 мкМ фотонов м⁻² с⁻¹ и температуре 22–24°C в течение 2–3 мес. Полученные накопительные культуры использовали для высева изолятов на 1%-ную агаризованную среду BG 11 с циклогексимидом (в конечной концентрации 50 мкг/мл). Таксономическую принадлежность полученных штаммов определяли в рамках принятого полифазного подхода в описании цианобактерий [15, 31].

Молекулярно-генетический анализ штаммов цианобактерий. Препараты ДНК получали с помощью набора DNAeasy Pro Plant (Qiagen) по протоколу фирмы-производителя. Амплификацию близких к полноразмерным фрагментов гена 16S рРНК проводили с ~30 нг ДНК и универсальными бактериальными праймерами 27F/1492R в стандартном режиме (95°C, 5 мин; 30 циклов: 95°C, 1 мин, 55°C, 30 с, 72°C, 1.5 мин; 72°C, 10 мин) на ампли-

фикаторе Bio-Rad T100 с помощью набора ScreenMix-HS (Евроген). Амплификацию фрагментов внутренних транскрибируемых спейсеров (ITS) рибосомального оперона осуществляли с праймерами 322F/340R [23] при тех же условиях. Полученные ПЦР-фрагменты проверяли электрофоретически в 1%-ном агарозном геле, из которого ампликоны вырезали и очищали с использованием набора Nucleospin Clean-Up (Macherey Nagel). Секвенирование полученных ПЦР-фрагментов проводили по Сэнгеру на оборудовании РЦ СПбГУ "Развитие молекулярных и клеточных технологий". Секвенированные последовательности 16S рРНК штаммов цианобактерий сравнивали с ранее задепонированными в базе данных GenBank NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) с помощью алгоритма BLASTn.

Филогенетический анализ секвенированных последовательностей гена 16S рРНК осуществляли методом ближайших соседей (Neighbor-Joining) при использовании двухпараметрической модели Кимуры в программе MEGA X [34, 51, 53]. Для оценки достоверности топологий полученных деревьев использовали бутстрэп-тест (10000 репликаций), а эволюционные расстояния рассчитывали с помощью метода максимального композитного правдоподобия (Maximum Composite Likelihood). Представленное в работе филогенетическое построение включает 102 последовательности гена 16S рРНК цианобактерий. Анализ консервативных и варьируемых участков внутренней транскрибируемой области (ITS) рибосомального оперона проводили как описа-

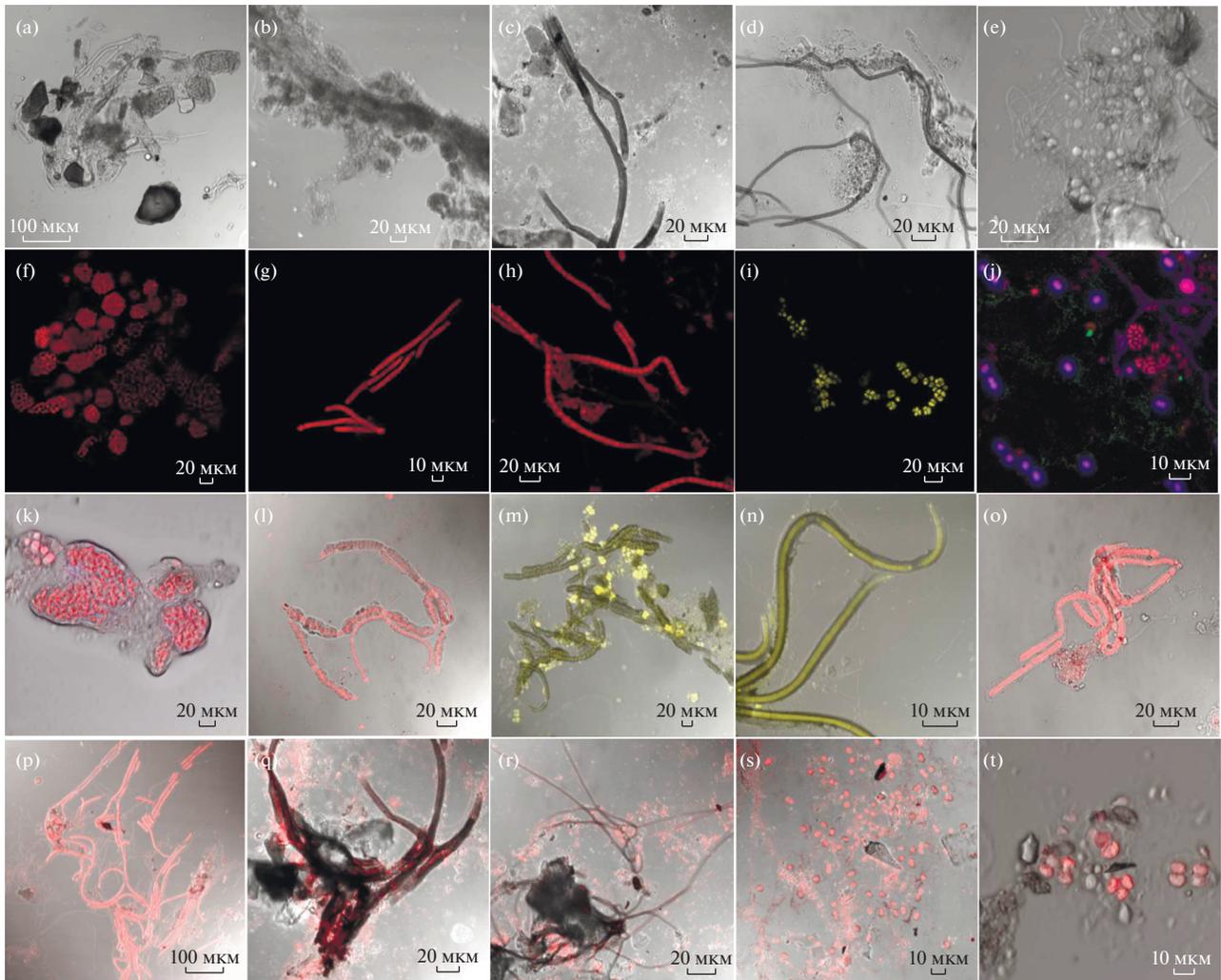


Рис. 2. Морфотипы цианобактерий, обнаруженных в сообществах микроорганизмов на стеклах обрастания: *Nostoc* (a, b, f, k, l, m), *Scytonema* (n), *Hassallia* (a, g, o), *Calothrix* (c, q), *Microcoleus* (h), *Phormidium* (p), *Phormidesmis* (d, r), *Leptolyngbya* (e, p), *Gloeocapsa* (j, s, t), cf. *Gloeocapsopsis* (i, m). Световая (a–e) и лазерно-конфокальная (f–j) микроскопия, а также их совместное использование (k–t). Флуоресцентная детекция цианобактерий (красный или желтый цвет), эубактерий (зеленый) и окраска материала ДНК и капсул (синий). Масштаб 100 мкм (a, e, p), 10 мкм (s, t) и 20 мкм (b–o, q, r).

но ранее [23, 25]. Вторичные структуры ITS анализировали с помощью программы RNAstructure [11]. Последовательности гена 16S рРНК исследованных штаммов депонированы в базу GenBank (OQ079417–OQ079431), как и фрагменты 16S–23S ITS (OQ079504–OQ079517).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Таксономический состав цианобактерий в почвенных биопленках. С помощью методов световой и конфокальной микроскопии на стеклах обрастания были выявлены преимущественно нитчатые гетероцистные и безгетероцистные морфотипы цианобактерий (рис. 2). Кроме цианобактерий в сообществах микроорганизмов были обнаружены

зеленые, диатомовые и десмидиевые эукариотические микроводоросли, а также микромицеты [3]. Конфокальная микроскопия препаратов с эубактериальным зондом EUB338I выявила большое количество бактерий (рис. 2j), но их таксон-специфичная детекция не входила в задачи исследования, поскольку биологическое разнообразие гетеротрофной части почвенной микробиоты оазиса Ларсеманн подробно изучено [4, 6, 35, 36, 38].

На исследованных стеклах обрастания встречались преимущественно одиночные нитчатые цианобактерии – представители пор. *Nostocales* Cavalier-Smith, обладающие, кроме вегетативных, дифференцированными клетками: гетероцистами (специализированными для азотфиксации) и акинетами (покоящимися стадиями). Ностоковые ча-

сто формируют характерные сине-зеленые шаровидные колонии, внутри которых трихомы слабо или плотно упакованы. Их изополярные трихомы, сформированные вегетативными клетками цилиндрической или бочонковидной формы, содержат интеркалярные или терминальные округлые гетероциты и крупные бочонковидные акинеты [30]. Обнаруженные морфотипы в целом соответствовали описанию р. *Nostoc* Vaucher (сем. Nostocaceae Eichler) (рис. 2а, 2б, 2ф, 2к–2м) [21, 30]. На стеклах обрастания преобладали микроскопические (видимые только в световой микроскоп) колонии видов *N. cf. commune* Vaucher и *N. cf. punctiforme* Hariot. Несколько реже встречались макроскопические колонии, характерные для *N. cf. pruniforme* Agardh и *N. cf. sphaericum* Vaucher [21, 30]. В целом их идентификация в настоящее время проводится только с учетом молекулярно-генетических признаков, а также наблюдения за стадиями жизненного цикла в культуре [30–32].

Кроме видов р. *Nostoc*, на стеклах обрастания выявлены морфотипы представителей сем. Tolypotrichaceae Hauer et al., определенные как *Hassallia* Berkeley (рис. 2а, 2г, 2о, 2р). Их ложноразветвленные гетерополярные трихомы состоят из бочонковидных или дисковидных вегетативных клеток, расположенных в коричневоокрашенных чехлах. Наряду с ними встречались виды р. *Calothrix* Agardh ex Bornet & Flahault (сем. Calothrichaceae Bennet & Murray), которые характеризуются гетерополярными трихомами с базальными гетероцистами, но вегетативные клетки в трихоме дисковидные, а их плотные чехлы более темноокрашенные (рис. 2с, 2q). Представителей родов *Hassallia*, *Rexia* Casamatta et al. и *Coleodesmium* Borzě ex Geitler трудно различить только на основании морфологических признаков, наблюдаемых в природном материале, поэтому для их идентификации требуется молекулярно-филогенетический анализ [21, 30, 31].

Кроме вышеперечисленных цианобактерий, на стеклах обрастания отмечены представители р. *Scytonema* Agardh (сем. Scytonemataceae Rabenhorst, пор. Nostocales) [30] с ложноветвящимися гетерополярными трихомами, заключенными в плотные иссиня-черные чехлы (рис. 2н).

Наряду с гетероцистными формами, на стеклах обрастания часто встречались тонкие одиночные трихомы безгетероцистных цианобактерий – р. *Leptolyngbya* Anagnostidis & Komárek (рис. 2е, 2р) и р. *Phormidesmis* Turicchia et al. (рис. 2д, 2г). Оба таксона нитчатых цианобактерий относятся к сем. Leptolyngbyaceae Komárek et al. (пор. Synchococcales Hoffmann et al.), а их представители отличаются друг от друга формой и размером клеток, а также наличием тонких или толстых (часто темноокрашенных, как у *Phormidesmis nigrescens* Raabová et al.) чехлов [29, 31]. Для уточнения их

систематического положения необходимы молекулярно-генетические данные [54, 56].

В почвенных биопленках обнаружены крупные трихомы нитчатых цианобактерий пор. Oscillatoriales Schaffner – *Microcoleus* Desmazières (сем. Microcoleaceae Strunecký et al.), *Phormidium* Kützing и *Lyngbya* Agardh (сем. Oscillatoriaceae Engler) (рис. 2h, 2p). Они различаются размером и формой клеток (дисковидная или изодиаметрическая), наличием/отсутствием у концевых клеток калиптр, а также типом организации трихомов (в пучках или одиночно) [21, 29, 31].

Кроме нитчатых цианобактерий, на стеклах обрастания отмечены одноклеточные морфотипы, относящиеся к пор. Chroococcales von Wettstein [26, 28]: *Gloeocapsa* Kützing (сферические клетки, объединенные по 2–4 многослойным слизистым чехлом) (рис. 1j, 2s, 2t) и cf. *Gloeocapsopsis* Geitler (группы сферических или многоугольных клеток, собранных в неправильной формы агрегаты) (рис. 2i, 2m).

Таким образом, с помощью методов световой и лазерно-конфокальной микроскопии в гиполитных горизонтах обнаружены преимущественно нитчатые цианобактерии р. *Nostoc*, *Hassallia*, *Calothrix*, *Scytonema*, *Microcoleus*, *Phormidium*, *Leptolyngbya*, *Phormidesmis*, а также редкие одноклеточные формы, отнесенные к р. *Gloeocapsa* и cf. *Gloeocapsopsis*. На основании морфологических признаков классифицировать близкородственные таксоны цианобактерий трудно, поэтому в работе использовали методы молекулярно-генетической идентификации лабораторных штаммов [15, 31].

Анализ таксономического положения штаммов цианобактерий. Выделенные из образцов почв 15 штаммов антарктических цианобактерий приведены в табл. 1 и табл. 2. Основу рабочей коллекции составили нитчатые цианобактерии, идентифицированные как представители р. *Nostoc*, *Coleodesmium*, *Leptolyngbya*, *Plectolyngbya* и *Phormidesmis* (рис. 3). Морфологическая и молекулярно-генетическая характеристика штаммов приведена в табл. 2, а их филогенетическое положение представлено на рис. 4.

Результаты BLASTn-анализа, последовательности гена 16S рPHK штаммов 15СТ-6, PS27-2.1, 62Т-1 и PS24-1, обладающих тонкими безгетероцистными трихомами (морфотипы на стеклах обрастания “*Leptolyngbya*” и “*Phormidesmis*”; сем. Leptolyngbyaceae), показали 99.6–99.8%-ное сходство с антарктическими штаммами, ранее выделенными из бентосных матов водоемов оазиса Ларсеманн [54–56]. Вторичные структуры D1–D1' домена ITS также подтверждают эти данные (рис. 5а): штаммы 15СТ-6 и PS27-2.1 (рис. 3г) оказались идентичны *Leptolyngbya* sp. ANT.L52.1 [54], штамм 62Т-1 (рис. 3h) – *Phor-*

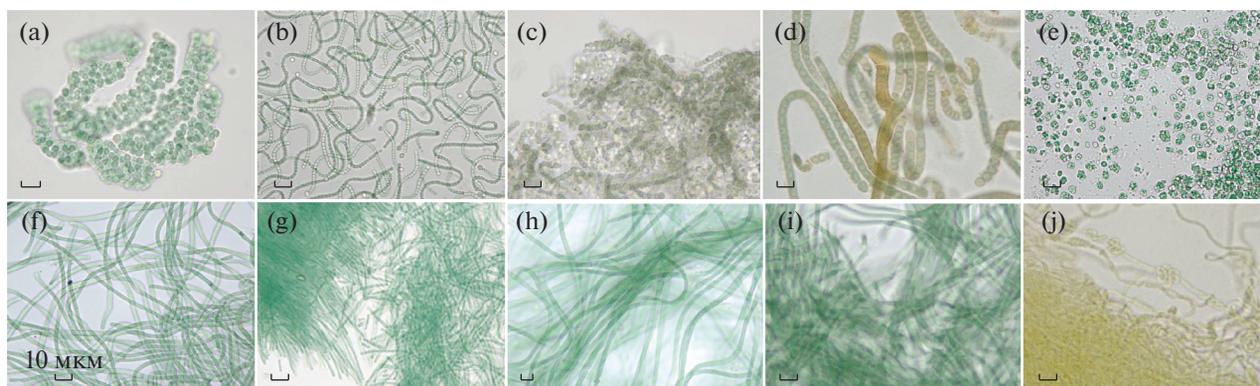


Рис. 3. Микрофотографии штаммов антарктических почвенных цианобактерий. *Nostoc* sp. 15CT-3.1 (a), *Nostoc* sp. PS27-2.2, 15CT-1.2 (b), *Halotia* sp. PS27-3.2, P52-1.2, PS33-1, P52-3.2 (c), штамм PS30-1.2 (d), штамм S121 (e), *Plectolyngbya hodgsonii* PS24-1 (f), *Leptolyngbya* sp. 15CT-6, PS27-2.1 (g), *Phormidesmis* sp. 62T-1 (h), штамм P52 (i), штамм PS30-1.1 (j). Масштаб 10 мкм.

midesmis priestleyi ANT.L61.2 [54], а штамм PS24-1 (рис. 3f) — *Plectolyngbya hodgsonii* ANT.LPR2.2 [56].

Кроме этого, обнаружено, что первичные последовательности гена 16S рРНК штамма PS30-1.2 (рис. 3d) и *Coleodesmium* sp. ANT.L52B.5 (сем. *Tolyrotrichaceae*) высокомологичны (99.8% сходства). Штамм *Coleodesmium* sp. ANT.L52B.5 ранее обнаружен в бентосных матах водоемов оазиса Ларсеманн [54]. Анализ вторичных структур ITS — D1–D1' петли и антитерминаторного участка B-бок — также подтверждает их идентичность (рис. 5a, 5b). При этом филогенетическое положение и молекулярно-генетические признаки штаммов PS30-1.2 и *Coleodesmium* sp. ANT.L52B.5 указывают на то, что они не принадлежат ни к р. *Coleodesmium* (поскольку их вторичные структуры ITS отличаются от таковых у типового вида *Coleodesmium wrangelii* Borzi ex Geitler; рис. 5a, 5b), ни к р. *Rexia* и р. *Hassallia* (рис. 4). Это позволяет предположить, что два антарктических представителя р. *Coleodesmium* — штамм PS30-1.2 и *Coleodesmium* sp. ANT.L52B.5 — составляют новый и, по-видимому, эндемичный вид цианобактерий, который встречается как в почве, так и в бентосных матах водоемов оазиса Ларсеманн.

Последовательность гена 16S рРНК штамма PS30-1.1 (рис. 3j) оказалась гомологична более чем на 98% последовательностям ранее не культивируемых цианобактерий, кластер которых филогенетически близок к роду *Stenomitos* Miscoe & Johansen (сем. *Leptolyngbyaceae*). Однако уровень сходства штамма PS30-1.1 с видами *Stenomitos* составляет только ~96%. Учитывая, что принятый пороговый уровень таксономического сходства по 16S рРНК составляет 98.65% (для нового вида) и 97.5% (для нового рода) [27], штамм PS30-1.1 можно рассматривать как впервые выделенный в лабораторную культуру и потенциально эндемичный вид нитчатых цианобактерий сем. *Leptolyngbyaceae*.

Штамм P52 по морфотипу также относится к нитчатым цианобактериям сем. *Leptolyngbyaceae* (рис. 3i). Согласно анализу секвенированных последовательностей 16S рРНК, он на 97% сходен с последовательностями цианобактерий р. *Muxacoris* Pietrasiak & Johansen [39]. Однако на филогенетическом древе штамм P52 располагается в сестринской кладе по отношению к последовательностям 16S рРНК р. *Muxacoris* (рис. 4). Кроме этого, P52 отличается от видов *Muxacoris* строением вторичных структур ITS (рис. 5a, 5b). Совокупность полученных данных позволяет рассматривать штамм P52 как представителя нового и, вероятно, эндемичного таксона антарктических почвенных цианобактерий.

Выделенные в лабораторные культуры нитчатые гетероцистные цианобактерии р. *Nostoc* — штаммы 15CT-3.1, PS27-2.2 и 15CT-1.2 (рис. 3a, 3b) оказались более чем на 98% сходны по 16S рРНК с широко распространенным в почвах по всему миру видом *Nostoc commune* [8]. В то же время штаммы PS27-3.2, PS33-1, P52-1.2 и P52-3.2 (рис. 3c) оказались по 16S рРНК на 97–98% близки цианобактериям р. *Halotia* Genuário et al. 2015. Необходимо отметить, что на филогенетическом древе эти штаммы располагаются отдельно от последовательностей других видов р. *Halotia* (рис. 4), а сравнительный анализ участков ITS подтверждает их отличие (рис. 5a, 5b). На основании этого можно предположить, что эти штаммы почвенных цианобактерий являются новыми представителями р. *Halotia*.

На нижней поверхности десквамационной плитки в составе сине-зеленых пятен обнаружены эпиплитные одноклеточные цианобактерии (табл. 1, точка 4). Выделенный с поверхности этого образца одноклеточный штамм S121 по результатам анализа 16S рРНК оказался максимально сходен только с некультивируемыми цианобактериями,

Таблица 2. Морфологическое описание и результаты молекулярно-генетической идентификации штаммов

№	Штамм	Морфотип	Морфологическая характеристика штамма	Ближайшая гомологичная последовательность в GenBank (выравнивание, %; идентичность, %)	Ближайший культивируемый штамм (выравнивание, %; идентичность, %)	Таксономический статус
1	PS30-1.1	<i>Leptolyngbya</i>	Трихомы длинные, изогнутые (могут образовывать узлы), однорядные, бледно-желто-зеленого цвета. Чехол тонкий, бесцветный. Клетки в трихоме изодиаметрические или дисковидные. Размер клеток $1.2 \pm 0.1 \times 1.1 \pm 0.2$ мкм (соотношение длины клеток к ширине 0.8 : 1). Перетяжки между клетками слабо выражены. Концевая клетка в трихоме закругленная, без калиптры. Некридалильные клетки отсутствуют. В жидкой среде образует рыхлые биопленки	Uncultured bacterium clone 22E07 (99.0; 98.3)	<i>Stenotilus</i> sp. Ru-0-2 (99.0; 96.4)	Новый таксон (обнаружен в антарктических почвах впервые)
2	PS24-1	<i>Plectolyngbya</i>	Трихомы длинные, прямые, в группах; могут быть с ложным ветвлением, однорядные, сине-зеленого цвета. Чехол толстый, бесцветный. Клетки в трихоме изодиаметрические или дисковидные, перетяжки между ними слабо выражены. Размер клеток $1.7 \pm 0.1 \times 1.1 \pm 0.1$ мкм (0.47 : 1). Концевая клетка в трихоме закругленная, без калиптры. Есть некридалильные клетки. Выделен из литоральных матов водоемов оазиса Ларсеманн. В жидкой среде образует плотные биопленки	<i>Plectolyngbya hodgsonii</i> ANT.LPR2.2 (99.0; 99.8)	<i>Plectolyngbya hodgsonii</i> ANT.LPR2.2 (99.0; 99.8)	<i>Plectolyngbya</i> sp. (амфибиальный вид, эндемик)
3	PS27-2.1	<i>Leptolyngbya</i>	Трихомы однорядные, покрытые тонким бесцветным чехлом, неразветвленные, с недифференцированными клетками. Клетки иногда бочковидные, чаще изодиаметрические. Перетяжки между клетками слабо выражены. Концевая клетка закругленная, без калиптры. Средняя длина клеток $0.8 \pm 0.2 \times 1.0 \pm 0.2$ мкм. (0.8 : 1). При культивировании образует плотные пленки на поверхности дна и стенок культуральных емкостей	<i>Leptolyngbya</i> sp. ANT.L52.1 (99.0; 99.6)	<i>Leptolyngbya</i> sp. ANT.L52.1 (99.0; 99.6)	<i>Leptolyngbya</i> sp. (амфибиальный вид, эндемик)
4	15CT-6	<i>Leptolyngbya</i>	Трихомы длинные, прямые, неразветвленные, однорядные, сине-зеленого цвета. Чехол бесцветный, тонкий. Клетки в трихоме изодиаметрические или дисковидные, перетяжки между ними слабо выражены. Размер клеток $1.1 \pm 0.1 \times 0.8 \pm 0.1$ мкм (0.7 : 1). Концевая клетка в трихоме закругленная, без калиптры. В жидкой среде образует плотные биопленки	<i>Leptolyngbya</i> sp. ANT.L52.1 (99.0; 99.6)	<i>Leptolyngbya</i> sp. ANT.L52.1 (99.0; 99.6)	<i>Leptolyngbya</i> sp. (амфибиальный вид, эндемик)

Таблица 2. Продолжение

№	Штамм	Морфотип	Морфологическая характеристика штамма	Ближайшая гомологичная последовательность в GenBank (выравнивание, %; идентичность, %)	Ближайший культивируемый штамм (выравнивание, %; идентичность, %)	Таксономический статус
5	P52	<i>Leptolyngbya</i>	Трихомы длинные, прямые, неразветвленные, однорядные, бледно-сине-зеленого цвета. Чехол бесцветный, толстый. Клетки в трихоме близки к изодиаметрическим, перетяжки между ними слабо выражены. Размер клеток $1.5 \pm 0.12 \times 1.1 \pm 0.2$ мкм (0.75 : 1). Концевая клетка в трихоме закругленная, без калиптры	<i>Murchoryx chilensis</i> FBCC-A220 (99.0; 97.3)	<i>Murchoryx chilensis</i> FBCC-A220 (99.0; 97.3)	Новый таксон уровня рода (обнаружен в антарктических почвах впервые)
6	62Г-1	<i>Phormidesmis</i>	Трихомы длинные, прямые, неразветвленные, однорядные, бледно-сине-зеленого цвета. Чехол бесцветный, толстый. Клетки в трихоме близки к изодиаметрическим, перетяжки между ними слабо выражены. Размер клеток $1.3 \pm 0.1 \times 0.9 \pm 0.1$ мкм (0.7 : 1). Концевая клетка в трихоме закругленная, без калиптры	<i>Phormidesmis priestleyi</i> ANT.L61.2 (99.0; 99.8)	<i>Phormidesmis priestleyi</i> ANT.L61.2 (99.0; 99.8)	<i>Phormidesmis</i> sp. (= <i>P. cf. commune</i>) (амфибиальный вид)
7	S121	cf. <i>Chroococcidiopsis</i>	Обнаружен эпилитно и эндолитно на сухой поверхности десквамационной плитки. Одноклеточный, образует иррегулярные плотные биопленки сине-зеленого цвета (пятна). Клетки округлой формы, размером 1.6 ± 0.2 мкм, располагаются в слизистых агрегатах по 4–8 клеток, собранных в плотные нерегулярные скопления. Обрастают: в жидкой среде клетки обрастают дно и стенки стеклянных колб и пробирок	Uncultured bacterium clone 217 (93.0; 99.1)	<i>Aphanocapsa</i> sp. CCNUW2 (98.0; 93.2) / <i>Pseudosacaryochloris sahariense</i> PLM132 (99.0; 92.5)	Новый таксон уровня рода (обнаружен и описан впервые)
8	PS30.1.2	<i>Coleodesmium</i>	Трихомы гетерополярные, цилиндрические с терминальными гетероцистами (округлыми или овальными). Имеют толстый коричневатого цвета чехол. Клетки в трихоме близки к изодиаметрическим, перетяжки между ними выражены слабо. Присутствует вакуолизация некоторых клеток (утолщение и видоизменение формы клеток до сильно вытянутых). Есть некримальные клетки. Размер изодиаметрических клеток $4.5 \pm 0.6 \times 4.4 \pm 0.3$ мкм (соотношение 1 : 1)	<i>Coleodesmium</i> sp. ANT.L52B.5 (99.0; 99.8)	<i>Coleodesmium</i> sp. ANT.L52B.5 (99.0; 99.8)	Новый таксон (амфибиальный вид; эндемик)

Таблица 2. Продолжение

№	Штамм	Морфотип	Морфологическая характеристика штамма	Ближайшая гомологичная последовательность в GenBank (выравнивание, %; идентичность, %)	Ближайший культивируемый штамм (выравнивание, %; идентичность, %)	Таксономический статус
9	PS33-1	<i>Halotia</i>	Трихомы образуют рыхлые колонии неопределенной формы, изополярные однорядные, неразветвленные, цилиндрические (легко распадаются), темно-зеленого, оливкового или желто-зеленого цвета; окружены слоем диффузной слизи. В трихоме есть акинеты и интеркалярные гетероцисты. Vegetативные клетки бочонковидные или округлые. Размер клеток $3.0 \pm 0.3 \times 3.6 \pm 0.2$ мкм (0.8 : 1). В жидкой среде образуют биопленки и проявляют склонность к газообразованию	<i>Halotia wermerae</i> CENA160 (98.0; 98.2)	<i>Halotia wermerae</i> CENA160 (98.0; 98.2)	Новый вид <i>Halotia</i> sp. (обнаружен в антарктических почвах впервые)
10	P52-3.2	<i>Halotia</i>	Трихомы изополярные однорядные, неразветвленные, цилиндрические (легко распадаются на отдельные клетки), темно-зеленого, оливкового или желто-зеленого цвета; окружены слоем диффузной слизи. В трихоме встречаются интеркалярные гетероцисты и акинеты. Vegetативные клетки бочонковидные или округлые. Размер клеток $2.4 \pm 0.5 \times 2.8 \pm 0.3$ мкм (0.8 : 1). В жидкой среде образуют биопленки и проявляют способность к газообразованию	<i>Halotia wermerae</i> CENA160 (98.0; 98.2)	<i>Halotia wermerae</i> CENA160 (98.0; 98.2)	Новый вид <i>Halotia</i> sp. (обнаружен в антарктических почвах впервые)
11	P52-1.2	<i>Halotia</i>	Трихомы изополярные однорядные, неразветвленные, цилиндрические (легко распадаются на отдельные клетки), темно-зеленого, оливкового или желто-зеленого цвета; окружены слоем диффузной слизи. В трихоме встречаются интеркалярные гетероцисты и акинеты. Vegetативные клетки бочонковидные или округлые. Размер клеток $2.5 \pm 0.3 \times 3.0 \pm 0.3$ мкм (0.8 : 1). В жидкой среде образуют биопленки и проявляют склонность к газообразованию	<i>Halotia wermerae</i> CENA160 (99.0; 97.8)	<i>Halotia wermerae</i> CENA160 (99.0; 97.8)	Новый вид <i>Halotia</i> sp. (обнаружен в антарктических почвах впервые)

Таблица 2. Продолжение

№	Штамм	Морфотип	Морфологическая характеристика штамма	Ближайшая гомологичная последовательность в GenBank (выравнивание, %; идентичность, %)	Ближайший культивируемый штамм (выравнивание, %; идентичность, %)	Таксономический статус
12	PS27-3.2	<i>Halotia</i>	Трихомы изополярные однорядные, неразветвленные, цилиндрические (легко распадаются на отдельные клетки), темно-зеленого, оливкового или желто-зеленого цвета; окружены слоем диффузной слизи. В трихоме встречаются интеркалярные гетероцисты и акинеты. Vegetативные клетки бочонковидные или округлые. Размер клеток $2.8 \pm 0.3 \times 3.2 \pm 0.2$ мкм (0.9 : 1). В жидкой среде образуют биопленки и проявляют склонность к газообразованию	<i>Halotia wermerae</i> CENA160 (99.0; 97.4)	<i>Halotia wermerae</i> CENA160 (99.0; 97.4)	Новый вид <i>Halotia</i> sp. (обнаружен в антарктических почвах впервые)
13	15СТ-1.2	<i>Nostoc</i>	Трихомы изополярные, однорядные, цилиндрические, сине-зеленого цвета. В трихоме встречаются интеркалярные акинеты и гетероцисты. Vegetативные клетки округлые или бочонковидные, размером $3.5 \pm 0.3 \times 3.9 \pm 0.4$ мкм (0.9 : 1)	<i>Nostoc commune</i> SO-36 NIES-3992 (98.0; 98.3)	<i>Nostoc commune</i> SO-36 NIES-3992 (98.0; 98.3)	<i>Nostoc commune</i> (космополит)
14	15СТ-3.1	<i>Nostoc</i>	Формирует темно-оливковые или сине-зеленые округлые микроскопические колонии. Трихомы изополярные, однорядные, цилиндрические, часто упакованы в слизистые пакеты с терминальным гетероцитом. Vegetативные клетки бочонковидные. В трихоме встречаются интеркалярные акинеты и гетероцисты (иногда концевые). Размер вегетативных клеток $3.6 \pm 0.4 \times 4.0 \pm 0.4$ мкм (0.9 : 1)	<i>Nostoc commune</i> SO-36 NIES-3992 (99.0; 98.2)	<i>Nostoc commune</i> SO-36 NIES-3992 (99.0; 98.2)	<i>Nostoc commune</i> (космополит)
15	PS27-2.2	<i>Nostoc</i>	Трихомы изополярные, однорядные, цилиндрические, сине-зеленого цвета. В трихоме встречаются интеркалярные акинеты и гетероцисты (интеркалярные или концевые). Vegetативные клетки бочонковидные, размер $2.6 \pm 0.3 \times 2.7 \pm 0.3$ мкм (1 : 1)	<i>Nostoc commune</i> SO-36 NIES-3992 (99.0; 99.4)	<i>Nostoc commune</i> SO-36 NIES-3992 (99.0; 99.4)	<i>Nostoc commune</i> (космополит)

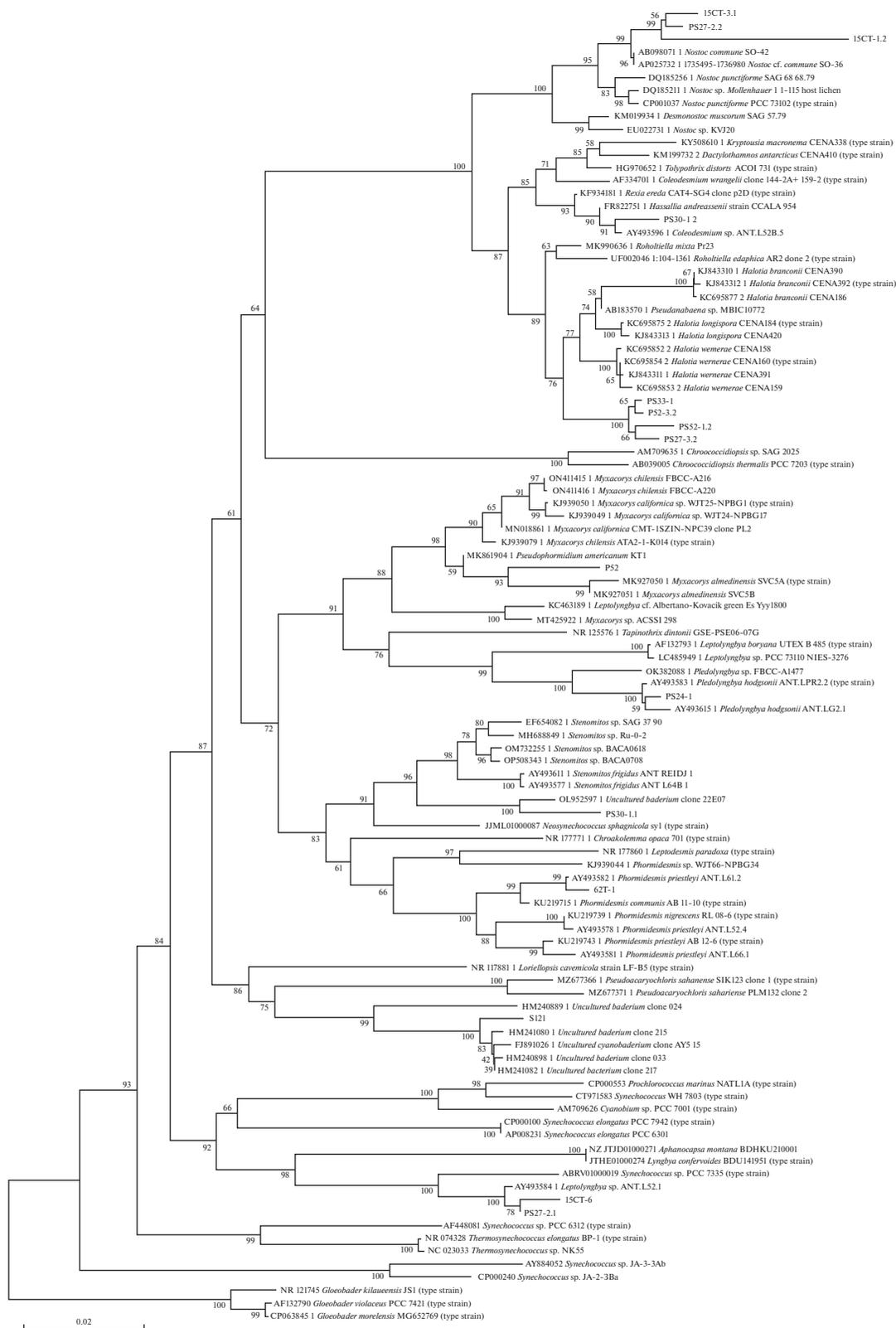


Рис. 4. Филогенетическое положение штаммов антарктических почвенных цианобактерий.

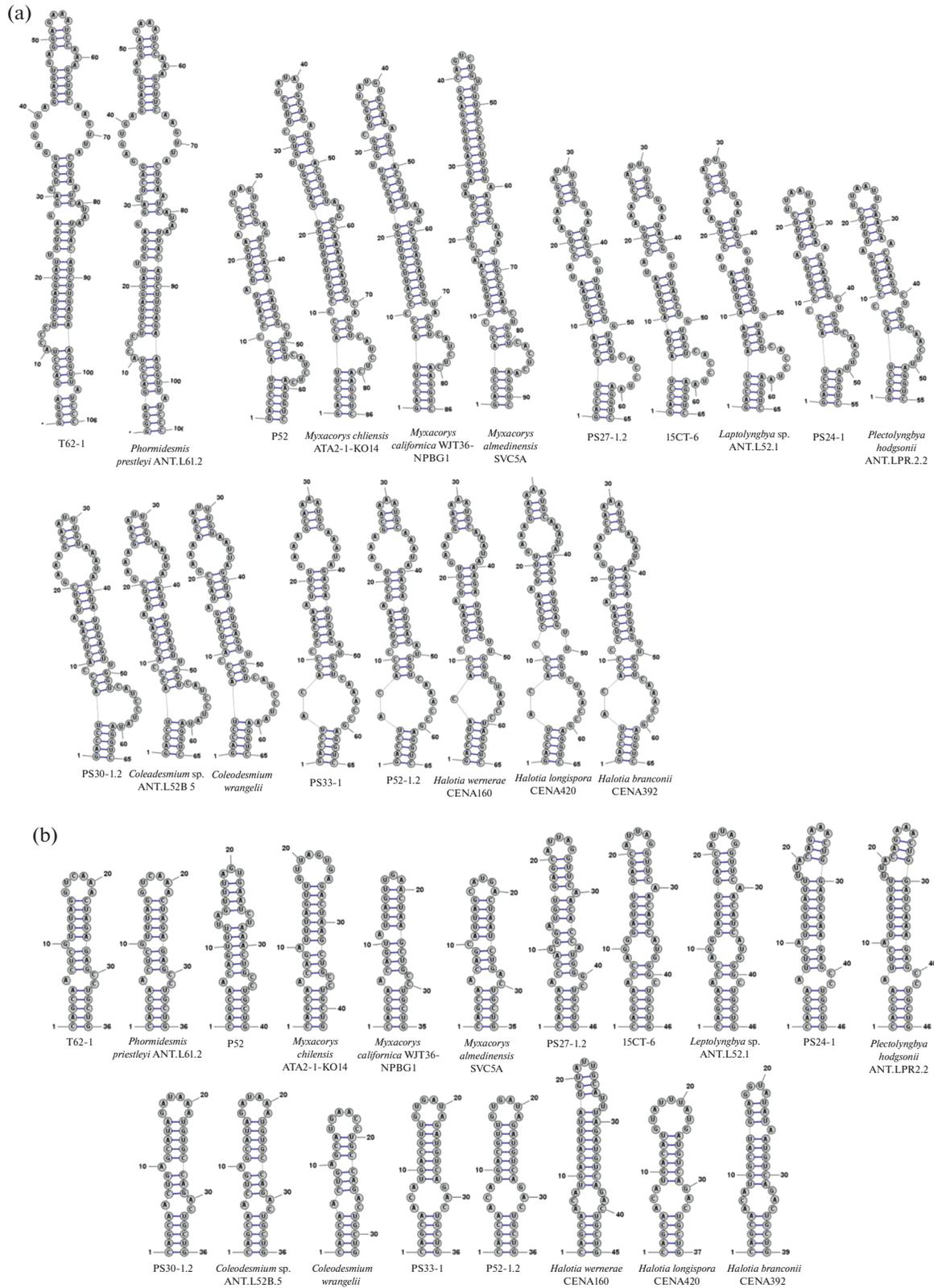


Рис. 5. Вторичные структуры 16S-23S ITS исследованных штаммов: домен D1-D1' (a) и B-box (b).

последовательности которых обнаружены в пустыне Атакама [35], а также в некоторых других аридных каменистых местообитаниях. Морфологически штамм S121 представлен группами клеток по 4–8, объединенных слизистыми оболочками в пакеты (рис. 3е). При этом отдаленно родственными (~93% сходства) для штамма S121 являются одноклеточные цианобактерии *Aphanocapsa* sp. CCNUW2 и *Pseudoacaryochloris sahariense* PLM 132 (литобионт, обнаруженный в пустыне Сахара) [39], от которых он сильно отличается морфологически. На филогенетическом древе штамм S121 кластеризуется с последовательностями некультивируемых цианобактерий, а от штаммов рода *Pseudoacaryochloris* расположен удаленно (рис. 5). Совокупность морфологических и молекулярно-генетических признаков свидетельствует, что штамм S121 – впервые выделенный и описанный таксон одноклеточных антарктических цианобактерий.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Необходимо отметить, что микробные комплексы с участием цианобактерий присутствовали практически на всех экспонируемых в почве стеклах обрастания [3], но степень их выраженности и частота встречаемости отличались в зависимости от места закладки стекол (экотопа), метода визуализации материала (вида микроскопии) и способа его исследования (с помощью микроскопической техники или культурально). При этом стандартные методы световой микроскопии, без дифференцированной окраски и/или визуализации бактериального материала с помощью конфокальной микроскопии и FISH (с дополнительным окрашиванием DAPI) не всегда позволяют детектировать в образце все присутствующие таксоны почвенных микроорганизмов, в том числе цианобактерии. В связи с этим в настоящей работе для анализа таксономического состава антарктических цианобактерий в гиполитных горизонтах оазиса Ларсеманн было проведено комплексное исследование стекол обрастания разными микроскопическими методами, а также образцов почв, из которых были выделены и проанализированы штаммы цианобактерий. Полученные данные о биоразнообразии доминирующих в гиполитных горизонтах почв антарктических цианобактерий, обнаруженных с помощью стекол обрастания, подтверждаются результатами идентификации штаммов коллекции. Вероятно, заселение микроорганизмами чистых поверхностей минералов (на примере стерильных стекол обрастания) происходит во всех исследованных ранее экотопах [3], в которых имеется необходимое количество доступной для жизни влаги и присутствуют признаки почвообразовательного процесса [61].

Таким образом, впервые дано комплексное описание биологического разнообразия антарктических цианобактерий в гиполитных горизонтах почв оазиса Ларсеманн и изучены доминирующие в них таксоны на примере описанных штаммов. В результате работы сформирована уникальная российская коллекция антарктических почвенных цианобактерий, охарактеризованных на основании комплекса морфологических и молекулярно-генетических признаков. Таксономический статус штаммов коллекции в целом подтверждает результаты *in situ* детекции и микроскопии стекол обрастания: в гиполитных горизонтах оазиса Ларсеманн доминируют нитчатые представители пор. Nostocales (штаммы *Nostoc*, *Halotia*) и пор. Synechococcales (штаммы *Phormidesmis*, *Plectolyngbya* и *Leptolyngbya*). Результаты анализа первичных последовательностей гена 16S рПНК и особенностей строения вторичных структур ITS свидетельствуют о том, что штаммы PS30-1.1, S121, PS33-1, P52-3.2, PS27-3.2, P52-1.2 и P52 выделены в культуры впервые и, по-видимому, являются новыми, ранее не описанными и потенциально эндемичными таксонами антарктических цианобактерий. Действительно, согласно имеющимся данным, от 21 до 57% депонированных в GenBank последовательностей гена 16S рПНК цианобактерий, обнаруженных в Антарктиде, являются эндемиками [33, 59]. Среди них описаны *Aphanocapsa* cf. *holastica*, *Aphanocapsa* cf. *hyalina* и *Arthronema* sp., *Geitlerinema deflexum*, *Leptolyngbya antarctica*, *Oscillatoria subproboscidea*, *Plectolyngbya hodgsonii*, *Phormidesmis priestleyi* и *Phormidium pseudopriestleyi*. Эндемичные таксоны цианобактерий встречаются в антарктических местообитаниях наряду с широко распространенными видами космополитами (например, *Nostoc commune* или *Oscillatoria* sp.) [8, 32, 22, 54–60].

Способность цианобактерий распространяться за пределы водных пространств неоднократно описана ранее [43, 44, 46, 48, 52, 54, 56, 60, 61]. Важным фактором при этом является уровень увлажненности заселяемых местообитаний. На примере данных по биоразнообразию антарктических почвенных цианобактерий в разных районах Сухих долин Мак-Мердо показано, что почвы долины Бикон (где отсутствуют водоемы) в целом таксономически более бедны, чем почвы долины Майерс, богатой водными объектами [43, 60]. В настоящем исследовании таксономический состав антарктических цианобактерий в сообществах почвенных микроорганизмов также изменялся качественно и становился беднее при уменьшении степени увлажненности исследованных экотопов [3]. Высокий уровень сходства последовательностей гена 16S рПНК некоторых штаммов рабочей коллекции (62Т-1, PS24-1, PS27-2.1, 15СТ-6, PS30-1.2) с ранее обнаруженными в составе бентосных матов водоемов оазиса

Ларсеманн (*Phormidesmis priestleyi* ANT.L61.2, *Plectolyngbya hodgsonii* ANT.LPR2.2, *Coleodesmium* sp. ANT.L52B.5 и *Leptolyngbya* sp. ANT.L52.1) позволяет рассматривать их как амфибиальные виды цианобактерий [46, 47, 49, 54–60].

Согласно наблюдениям, многие биотопы в оазисе питаются тальми водами и помимо субаэральной стадии могут проходить через субаквальную, т.е. иметь черты амфибиальных ландшафтов. При этом продолжительность и интенсивность поступления талой воды очень разные. Например, маленький снежник в наскальной ванне (точка 2) быстро тает в начале сезона, в связи с чем происходит “вспышка” в развитии цианобактерий в сообществе микроорганизмов мелких луж или верхних горизонтов почв, а затем они подсыхают. В то же время в днище долины (точка 3) крупный снежник способен обеспечивать питание и даже затопление талой водой в течение всего периода с положительными температурами. Качественно выравнивать таксономический состав между близкими биотопами (и тем самым обеспечивать широкую представленность в них амфибиальных видов) могут также сильные ветры, которые перераспределяют мелкозем с частицами бактериальных биопленок в оазисе и за его пределами. В случае наиболее засушливых (точка 1) или эндолитных местообитаний (точка 4) отмечена значительная редукция (до 1–2 видов) таксономического разнообразия цианобактерий.

Таким образом, максимальное биоразнообразие цианобактерий встречается в составе антарктических бентосных и литоральных матов постоянных и временных водоемов: там отмечены представители р. *Oscillatoria*, *Phormidium*, *Leptolyngbya*, *Nostoc*, *Geitlerinema*, *Lyngbya*, *Pseudanabaena*, *Hydrocoryne*, *Nodularia*, *Schizothrix*, *Microcoleus*, *Tychonema*, *Aphanocapsa*, *Gloeocapsa*, а также *Lyngbya antarctica*, *Plectolyngbya hodgsonii* и *Leptolyngbya antarctica* [3, 43, 45, 56–58]. При этом значительная часть их таксономического разнообразия обнаруживается и в почвенных сообществах [3, 32, 44, 46, 48, 58–61]. Полученные результаты, а также литературные данные указывают на способность антарктических цианобактерий водных местообитаний заселять как эдафические, так и литические экологические ниши благодаря пластичной способности метаболизма адаптироваться к условиям ограничения доступности влаги и в целом к контрастным климатическим условиям окружающей среды.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Работу осуществляли на базе оборудования, предоставленного РЦ СПбГУ “Хромас”, “Развитие молекулярных и клеточных технологий” и “Культивирование микроорганизмов”. Авторы благодарят Д.Г. Федорова-Давыдова (Институт физико-химических и биоло-

гических проблем почвоведения РАН) и А.В. Якушева (факультет почвоведения МГУ им. М.В. Ломоносова) за ценные замечания и использованные в работе материалы.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при поддержке проекта РНФ № 22-24-00590 “Биологическое разнообразие цианопрокариот в антарктических альго-бактериальных консорциумах”.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абакумов Е.В. Почвы Западной Антарктики. СПб.: Изд-во СПбГУ, 2011. 112 с.
2. Горячкин С.В., Гиличинский Д.А., Мергелов Н.С., Кониюшков Д.Е., Лупачев А.В., Абрамов А.А., Зазовская Э.П. Почвы Антарктиды: первые итоги, проблемы и перспективы исследований // Геохимия ландшафтов и география почв (к 100-летию со дня рождения М.А. Глазовской). М.: Изд-во Моск ун-та, 2012. С. 361–388.
3. Якушев А.В., Величко Н.В., Федоров-Давыдов Д.Г., Мергелов Н.С., Лупачев А.В., Рабочая Д.Е., Белосохов А.Ф., Соина В.С. Исследование микробных сообществ почв Антарктики методом стекол обращения // Почвоведение. 2022. № 12. С. 1514–1529. <https://doi.org/10.31857/S0032180X2260069X>
4. Almela P., Justel A., Quesada A. Heterogeneity of microbial communities in soils from the Antarctic Peninsula region // Front. Microbiol. 2021. V. 12. P. 1–13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.628792>
5. Alm E.W., Oerther D.B., Larsen N., Stahl D.A., Raskin L. The oligonucleotide probe database // Appl. Env. Microbiol. 1996. V. 62. P. 3557–3559. <https://doi.org/10.1128/aem.62.10.3557-3559.1996>
6. Alekseev I., Zverev A., Abakumov E. Microbial communities in permafrost soils of Larsemann Hills, Eastern Antarctica: environmental controls and effect of human impact // Microorganisms. 2020. V. 8. P. 1202. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8081202>
7. Amann R.I., Fuchs B.M., Behrens S.F. The identification of microorganisms by fluorescence *in situ* hybridization // Curr. Op. Biotech. 2001. V. 12. P. 231–236. [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(00\)00204-4](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(00)00204-4)
8. Arima H., Horiguchi N., Takaichi S., Kofuji R., Ishida K., Wada K., Sakamoto T. Molecular-genetic and chemotaxonomic characterization of the terrestrial cyanobacterium *Nostoc commune* and its neighboring species // FEMS Microb. Ecol. 2012. V. 79. № 1. P. 34–45. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2011.01195.x>
9. Blanco Y., Prieto-Ballesteros O., Gómez M.J., Moreno-Paz M., García-Villadangos M., Rodríguez-Manfredi J.A., Cruz-Gil P., Sánchez-Román M., Rivas L.A., Parro V. Prokaryotic communities and operating metabolisms in the surface and the permafrost of Deception Island (Antarctica) // Env. Microbiol. 2012. V. 14. № 9.

- P. 2495–2510.
<https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2012.02767.x>
10. Barrera A., Acuña-Rodríguez I.S., Ballesteros G.I., Atala C., Molina-Montenegro M.A. Biological soil crusts as ecosystem engineers in Antarctic ecosystem // *Front. Microbiol.* 2022. V. 13. P. 755014.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.755014>
 11. Barrett J.E., Virginia R.A., Wall D.H., Cary S.C., Adams B.J., Hacker A.L., Aislabie J.M. Co-variation in soil biodiversity and biogeochemistry in northern and southern Victoria Land, Antarctica // *Ant. Sci.* 2006. V. 18. P. 535–548.
<https://doi.org/10.1017/S0954102006000587>
 12. Bellaousov S., Castrogiovanni J., Seetin M., Mathews D. RNAstructure: Web servers for RNA secondary structure prediction and analysis // *Nucleic Acids Research.* 2013. V. 41. W1. P. 471–474.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkt290>
 13. Bockheim J.G. Soil-forming factors in Antarctica // *The soils of Antarctica.* Heidelberg, Springer, 2015. P. 5–20.
<https://doi.org/10.1007/978-3-319-05497-1>
 14. Bottos E.M., Scarrow J.W., Archer S.D.J., McDonald I.R., Cary S.C. Bacterial community structures of Antarctic soils // *Antarctic terrestrial microbiology.* Berlin-Heidelberg, Springer, 2014. P. 9–33.
https://doi.org/10.1007/978-3-642-45213-0_2
 15. Castenholz R.W. Phylum BX. Cyanobacteria // *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.* N.Y.: Springer-Verlag, 2001. V. 1. P. 473–599.
https://doi.org/10.1007/978-0-387-21609-6_27
 16. Christmas N.A.M., Anesio A.M., Sanchez-Baracaldo P. Multiple adaptations to polar and alpine environments within cyanobacteria: a phylogenomic and Bayesian approach // *Front. Microbiol.* 2015. V. 6. P. 1070.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01070>
 17. Cowan D.A., Sohm J.A., Makhallanyane T.P., Capone D.G., Green T.G., Cary S.C., Tuffin I.M. Hypolithic communities: important nitrogen sources in Antarctic desert soils // *Env. Microbiol. Rep.* 2011. V. 3. P. 581–586.
<https://doi.org/10.1111/j.1758-2229.2011.00266.x>
 18. De los Ríos A., Cary C., Cowan D. The spatial structures of hypolithic communities in the Dry Valleys of East Antarctica // *Polar Biol.* 2014. V. 37. № 12. P. 1823–1833.
<https://doi.org/10.1007/s00300-014-1564-0>
 19. González Garraza G., Mataloni G., Fermani P., Vinocur A. Ecology of algal communities of different soil types from Cierva Point, Antarctic Peninsula // *Polar Biol.* 2011. V. 34. P. 339–351.
<https://doi.org/10.1007/s00300-010-0887-8>
 20. Greuter D., Loy A., Horn M., Rattei T. ProbeBase – an online resource for rRNA-targeted oligonucleotide probes and primers: new features // *Nuc. Acids Res.* 2016. V. 44. P. 586–589.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkv1232>
 21. Hauer T., Komárek J. Cyanodb 2.0 – Online database of cyanobacterial genera. World-wide electronic publication // *Univ. South Bohemia and Instit. of Botany AS CR.* 2022. <http://www.cyanodb.cz>
 22. Hong J.W., Kim S.H., Choi H.-G., Kang S.-H., Yoon H.-S. Isolation and description of a globally distributed cryosphere cyanobacterium from Antarctica // *Polar. Res.* 2013. V. 32. P. 18529.
<https://doi.org/10.3402/polar.v32i0.18529>
 23. Iteman I., Rippka R., Tandeau de Marsac N., Herdman M. Comparison of conserved structural and regulatory domains within divergent 16S rRNA spacer sequences of Cyanobacteria // *Microbiology.* 2000. V. 146. P. 1275–1286.
<https://doi.org/10.1099/00221287-146-6-1275>
 24. IUSS Working Group WRB. World Reference Base for Soil Resources 2014, update 2015 International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. World Soil Resources Reports No. 106. FAO, Rome, 2015.
 25. Johansen J.R., Kovacik L., Casamatta D.A. et al. Utility of 16S–23S ITS sequence and secondary structure for recognition of intrageneric and intergeneric limits within cyanobacterial taxa: *Leptolynghya corticola* sp. nov. (Pseudanabaenaceae, Cyanobacteria) // *Nova Hedw.* 2011. V. 92. P. 283–302.
<https://doi.org/10.1127/0029-5035/2011/0092-0283>
 26. Kaštovský J., Hauer T., Komárek J. Cyanobacteria on rock surfaces // *Life at Rock Surfaces.* 2021. P. 87–140.
<https://doi.org/10.1515/9783110646467>
 27. Kim M., Oh H.S., Park S.C., Chun J. Towards a taxonomic coherence between average nucleotide identity and 16S rRNA gene sequence similarity for species demarcation of prokaryotes // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2014. V. 64. P. 346–351.
<https://doi.org/10.1099/ijs.0.059774-0>
 28. Komárek J., Anagnostidis K. Cyanoprokaryota 1. Teil. 1st Part: Chroococcales // *Susswasserflora von Mitteleuropa* 19/2. Heidelberg: Elsevier/Spektrum, 1998. 548 p.
 29. Komárek J., Anagnostidis K. Cyanoprokaryota 2. Teil. 2nd Part: Oscillatoriales // *Susswasserflora von Mitteleuropa* 19/2. Heidelberg: Elsevier/Spektrum, 2005. 759 p.
 30. Komárek J. Cyanoprokaryota 3. Teil. 3rd Part: Heterocytous Genera // *Susswasserflora von Mitteleuropa* 19/2. Heidelberg: Elsevier/Spektrum, 2013. 1130 p.
 31. Komárek J., Kaštovský J., Mareš J., Johansen J.R. Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera) 2014, using a polyphasic approach // *Preslia.* 2014. V. 86. P. 295–335.
 32. Komárek J., Genuário D., Fiore M., Fiore J. Heterocytous cyanobacteria of the Ulu Peninsula, James Ross Island, Antarctica // *Polar Biol.* 2014. V. 38. № 4. P. 475–492
 33. Komárek J. About endemism of cyanobacteria in freshwater habitats of maritime Antarctica // *Algol. Stud.* 2015. V. 148. P. 15–32.
https://doi.org/10.1127/algol_stud/2015/0219eschweizerbart
 34. Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms // *Mol. Biol. Evol.* 2018. V. 35. № 6. P. 1547–1549.
<https://doi.org/10.1093/molbev>
 35. Lacap D.C., Warren-Rhodes K.A., McKay C.P., Pointing S.B. Cyanobacteria and chloroflexi-dominated hypolithic colonization of quartz at the hyper-arid core of the Atacama Desert, Chile // *Extremophiles.* 2011. V. 15. P. 31–38.
<https://doi.org/10.1007/s00792-010-0334-3>
 36. Lambrechts S., Willems A., Tahon G. Uncovering the uncultivated majority in Antarctic soils: toward a synergistic approach // *Front. Microbiol.* 2019. V. 10. P. 10.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00242>

37. Loy A., Horn M., Wagner M. ProbeBase: an online resource for rRNA-targeted oligonucleotide probes // *Nuc. Acids Res.* 2003. V. 31. № 1. P. 514–516. <https://doi.org/10.1093/nar/gkg016>
38. Lysak V., Maksimova I., Nikitin D., Ivanova E., Kudinova A., Soina E., Maefenina O. Soil microbial communities of Eastern Antarctica // *Mos. Univ. Biol. Sci. Bull.* 2018. V. 73. P. 104–112. <https://doi.org/10.3103/S0096392518030124>
39. Mehda S., Muñoz-Martín M.Á., Oustani M., Hamdi-Aissa B., Perona E., Mateo P. Lithic cyanobacterial communities in the polyextreme Sahara Desert: implications for the search for the limits of life // *Env. Microbiol.* 2021. V. 24. P. 451–474. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15850>
40. Mergelov N.S. Soils of wet valleys in the Larsemann Hills and Vestfold Hills oases (Princess Elizabeth Land, East Antarctica) // *Eurasian Soil Sci.* 2014. V. 47. P. 845–862. <https://doi.org/10.1134/S1064229314090099>
41. Mergelov N.S., Dolgikh A.V., Shorkunov I.G., Zazovskaya E.P., Soina V.S., Yakushev A.V., Fedorov-Davydov D.G., Pryakhin S., Dobryansky A.S. Hypolithic communities shape soils and organic matter reservoirs in the ice-free landscapes of East Antarctica // *Sci. Rep.* 2020. V. 10. P. 10277. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67248-3>
42. Micheli C., Cianchi R., Paperi R., Belmonte A., Pushparaj B. Antarctic cyanobacteria biodiversity based on ITS and TrnL sequencing and its ecological implication // *Op. J. Ecol.* 2014. V. 4. P. 456–467. <https://doi.org/10.4236/OJE.2014.48039>
43. Michaud A.B., Šabacká M., Prisco J.C. Cyanobacterial diversity across landscape units in a polar desert: Taylor Valley, Antarctica // *FEMS Microbiol. Ecol.* 2012. V. 82. № 2. P. 268–278. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2012.01297.x>
44. Niederberger T.D., McDonald I.R., Hacker A.L., Soo R.M., Barrett J.E., Wall D.H., Cary S.C. Microbial community composition in soils of Northern Victoria Land, Antarctica // *Env. Microbiol.* 2015. V. 10. № 7. P. 1713–1724. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2008.01593.x>
45. Pandey K.D., Shukla S.P., Shukla P.N., Giri D.D., Singh J.S., Singh P., Kashyap A.K. Cyanobacteria in Antarctica: ecology, physiology and cold adaptation // *Cell. Mol. Biol.* 2004. V. 50. P. 575–584. <https://doi.org/19993029>
46. Pearce D.A., Newsham K.K., Thorne M.A., Calvo-Bado L., Krsek M., Laskaris P., Hodson A., Wellington E.M. Metagenomic analysis of a southern maritime Antarctic soil // *Front. Microbiol.* 2012. V. 3. P. 403. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00403>
47. Pessi I.S., Maalouf P.D.C., Laughinghouse H.D., Baurain D., Wilmotte A. On the use of high-throughput sequencing for the study of cyanobacterial diversity in Antarctic aquatic mats // *J. Phycol.* 2016. V. 52. P. 356–368. <https://doi.org/10.1111/jpy.12399>
48. Prieto-Barajas C.M., Valencia-Canterob E., Santoyo G. Microbial mat ecosystems: structure types, functional diversity, and biotechnological application // *Electr. J. Biotech.* 2018. V. 31. P. 48–56. <https://doi.org/10.1016/J.EJBT.2017.11.001>
49. Rego A., Raio F., Martins T., Ribeiro H., Sousa A.G.G., Séneca J., Baptista M.S., Lee C.K., Cary S.C., Ramos V., Carvalho M.F., Leão P.N., Magalhães C. Actinobacteria and cyanobacteria diversity in terrestrial Antarctic microenvironments evaluated by culture-dependent and independent methods // *Front. Microbiol.* 2019. V. 10. P. 1018. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01018>
50. Rippka R., Deruelles J., Waterbury J.B., Herdman M., Stanier R.Y. Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria // *J. Gen. Microbiol.* 1979. V. 111. P. 1–61. <https://doi.org/10.1099/00221287-111-1-1>
51. Saitou N., Nei M. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees // *Mol. Biol. Evol.* 1987. V. 4. P. 406–425.
52. Severgnini M., Canini F., Consolandi C., Camboni T., Paolo D'Acqui L., Mascalchi C., Ventura S., Zucconi L. Highly differentiated soil bacterial communities in Victoria Land macro-areas (Antarctica) // *FEMS Microb. Ecol.* 2021. V. 97. № 7. P. fiab087. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiab087>
53. Tamura K., Nei M., Kumar S. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method // *Proc. Nat. Acad. Sci.* 2004. V. 101. P. 11030–11035.
54. Taton A., Grubisic S., Ertz D., Hodgson D.A., Piccardi R., Biondi N., Tredici M.R., Mainini M., Losi D., Marinelli F., Wilmotte A. Polyphasic study of Antarctic cyanobacterial strains // *J. Phycol.* 2006. V. 42. P. 1257–1270. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2006.00278.x>
55. Taton A., Hoffmann L., Wilmotte A. Cyanobacteria in microbial mats of Antarctic lakes (East Antarctica) – a microscopical approach // *Algol. Stud./Arch. Hydrob.* 2008. V. 126. P. 173–208. <https://doi.org/10.1127/1864-1318/2008/0126-0173>
56. Taton A., Wilmotte A., Šmarda J., Elster J., Komárek J. *Plectolyngbya hodgsonii*: a novel filamentous cyanobacterium from Antarctic lakes // *Polar Biol.* 2011. V. 34. P. 181–191. <https://doi.org/10.1007/s00300-010-0868-y>
57. Yergeau E., Newsham K.K., Pearce D.A., Kowalchuk G.A. Patterns of bacterial diversity across a range of Antarctic terrestrial habitats // *Env. Microbiol.* 2007. V. 9. № 11. P. 2670–2682. <https://doi.org/10.1111/J.1462-2920.2007.01379.X>
58. Velichko N.V., Smirnova S.V., Averina S.G., Pinevich A.V. A survey of Antarctic cyanobacteria // *Hydrobiologia.* 2021. V. 848. № 11. P. 1–26. <https://doi.org/10.1007/s10750-021-04588-9>
59. Vyverman W., Verleyen E., Wilmotte A., Hodgson D.A., Willems A., Peeters K., van de Vijver B., De Wever A., Leliaert F., Sabbe K. Evidence for widespread endemism among Antarctic micro-organisms // *Polar Sci.* 2010. V. 4. № 2. P. 103–113. <https://doi.org/10.1016/j.polar.2010.03.006>
60. Wood S.A., Rueckert A., Cowan D.A., Cary S.C. Sources of edaphic cyanobacterial diversity in the Dry Valleys of Eastern Antarctica // *ISME J.* 2008. V. 2. № 3. P. 308–320. <https://doi.org/10.1038/ismej.2007.104>
61. Wynn-Williams D.D. Response of pioneer soil microalgal colonists to environmental change in Antarctica // *Microb. Ecol.* 1996. V. 31. № 2. P. 177–188. <https://doi.org/10.1007/BF00167863>

Cyanobacteria in Hypolithic Horizons of Soils in the Larsemann Hills, East Antarctica

N. V. Velichko^{1, *}, D. E. Rabochaya¹, A. V. Dolgikh², and N. S. Mergelov²

¹*Saint-Petersburg State University, Saint Petersburg, 199034 Russia*

²*Institute of Geography of the Russian Academy of Sciences, Moscow, 119017 Russia*

**e-mail: n.velichko@spbu.ru*

The research is devoted to the analysis of biodiversity of Antarctic soil cyanobacteria in hypolithic organo-accumulative horizons of the Larsemann Hills (East Antarctica). Studying of fouling glasses by the methods of light and confocal microscopy, as well as fluorescent *in situ* hybridization, has shown that filamentous forms predominate among cyanobacteria in the upper layers of Antarctic hypolithic microbial communities. To clarify the taxonomic status, strains of the genera *Nostoc*, *Halotia*, *Leptolyngbya*, *Plectolyngbya*, *Phormidium*, as well as some new and previously undescribed representatives of Antarctic cyanobacteria were isolated from corresponding soil samples. The strains of the unique collection of soil cyanobacteria that we formed for the first time were described according to modern methods of polyphasic taxonomy based on analysis of the complex of morphological and molecular-genetic characters. The results of phylogenetic analysis of the primary sequence of 16S rRNA gene and peculiarities of organization of secondary structures of internal transcribed spacers of ribosomal operon allowed to identify new taxa of potentially endemic cyanobacteria among the studied strains. The high level of similarity of 16S rRNA gene sequences of soil cyanobacteria with those previously detected in the water bodies of the Larsemann Hills confirms their ability to spread beyond the limits of individual ecological niches and to adapt flexibly to contrasting environmental conditions.

Keywords: biofilms, fouling glasses, FISH, laboratory cultures, 16S rRNA, 16S–23S ITS secondary structures, endemism