

УДК 577.29:574.586

DOI: 10.17072/1994-9952-2018-1-97-104.

**А. И. Саралов, П. Г. Беляева**

Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия

## ОЦЕНКА РАЗНООБРАЗИЯ ЦИАНОБАКТЕРИЙ И ВОДОРОСЛЕЙ ЭПИЛИТОНА Р. СЫЛВЫ (ПЕРМСКИЙ КРАЙ) МОРФОЛОГИЧЕСКИМИ И МОЛЕКУЛЯРНЫМИ МЕТОДАМИ

Исследовано разнообразие альгоценозов эпилитона среднего течения р. Сылвы. Применен комплекс морфоцитологических методов альгологии и современной молекулярной экологии. Проведена полимеразная цепная реакция с использованием олигонуклеотидных праймеров для избирательной амплификации, клонирования и секвенирования фрагментов генов 16S рРНК цианобактерий и пластид. В конце аномально теплого лета 2016 г. в эпилитоне р. Сылвы выявлено 98 видов водорослей из трех отделов: Bacillariophyta (80% по биомассе – В; 40% по численности –N), Chlorophyta (15% В; 10% N) и Cyanophyta/Cyanobacteria (5% В; 50% N). По результатам филогенетического анализа генов 16S рРНК 142 клонов, 80 отнесено к диатомовым и 2 к зеленым водорослям, 60 – к цианобактериям. В фрагментах пластидных геномов Bacillariophyta эпилитона выявлено две филогенетически обособленных ветви клонов, родственные представителям с разным строением панциря и отношением к солености воды. Причем 89% видов диатомовых были детектированы в эпилитоне и морфологическими, и молекулярными методами. Результаты исследования генов 16S рРНК хлоропластов Bacillariophyta эпилитона хорошо согласовались с их естественной филогенетической системой, основанной на морфологии и детальной структуре кремневого панциря. Напротив, морфотаксономические признаки цианобактерий эпилитона слабо согласовались с данными молекулярного анализа на основе сравнения нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК.

**Ключевые слова:** эпилитон; цианобактерии; 16S рРНК; диатомовые водоросли; зеленые водоросли; таксономия.

**A. I. Saralov, P. G. Belyaeva**

Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the Ural Branch RAS, Perm, Russian Federation

## DIVERSITY ASSESSMENT OF CYANOBACTERIA AND ALGAE OF SYLVA RIVER EPILITON (PERM KRAY) BY MORFOLOGICAL AND MOLECULAR METHODS

Algocenosis diversity of the epilithon to the middle reach of submountain Sylva river (Perm kray) was studied. A complex of morphological and cytological methods of algology and modern molecular ecology was applied. Polymerase chain reaction (PCR) was conducted using oligonucleotide primers for selective amplification, cloning and sequencing of 16S rRNA genes' fragments of cyanobacteria and plastids, but not for bacteria and archaea. By the end of anomalous hot summer 2016, 98 algal species from three groups within the epilithon of the Sylva river – Bacillariophyta (80% of biomass – В; 40% of number – N), Chlorophyta (15% В; 10% N) and Cyanophyta/Cyanobacteria (5% В; 50%N) – were identified. 142 clones from the PCR-products were selected and detected to the phylogenetic analysis: 80 species were belonged to diatoms, 2 – to green algae and 60 – to Cyanobacteria. In 16S rRNA genes' fragments, localized in chloroplast genomes of Bacillariophyta from the epilithon, two phylogenetically distinct groups of clones were revealed that have different frustule structure and sensitivity to water salinity. The analysis of 16S rRNA genes' fragments, localized in Bacillariophyta's chloroplast genomes well corresponded to natural phylogenetic system based on morphology and detailed structure of silica frustule. Notably, 89% of diatom species were detected within the epilithon using morphological and molecular methods. Morphological characteristics of cyanobacteria from the epilithon poorly corresponded to their phylogeny based on the comparison of 16S rRNA genes' nucleotide sequences.

**Key words:** epilithon; Cyanobacteria; 16S rRNA; Bacillariophyta; Chlorophyta; taxonomia.

При исследовании речных экосистем в последние десятилетия особое внимание уделяется изуче-

нию разнообразия альго-бактериальных сообществ перифитона с использованием методов молекуляр-

ной экологии [Nübel et al., 2000; O'Sullivan, Weightmann, Fry, 2002; Bricheux et al., 2013; Lindemann et al., 2013; Семейкина и др., 2015].

Фито- и бактериоперифитону водотоков Камского бассейна, в частности, в наиболее изученной нами предгорной р. Сылве Пермского края, принадлежит ведущее положение в самоочищении и биопродуктивности, азотфиксации и денитрификации [Беляева, 2004; Беляева и др., 2007; Саралов и др., 2010]. В настоящее время согласно морфоцитологическим данным в перифитоне р. Сылвы отмечена четкая тенденция увеличения численности и разнообразия Cyanophyta/Cyanobacteria за счет представителей родов *Snowella*, *Merismopedia*, *Gloeotrichia*, *Oscillatoria* и сокращение Bacillariophyta родов *Navicula*, *Synedra*, *Cymbella* [Беляева, 2014]. В связи с этим возникает необходимость в оценке биоразнообразия и состава альго-бактериальных сообществ перифитона предгорной реки с использованием комплекса альгологических и молекулярных методов.

Цель работы – с применением молекулярно-биологических и общепринятых в альгологии морфоцитологических методов охарактеризовать разнообразие цианобактерий, диатомовых и зеленых водорослей в образцах эпилитона р. Сылвы.

## Материалы и методы

Река Сылва – предгорная река Среднего Урала, впадает в Чусовской залив Камского водохранилища. Каменистые субстраты среднего течения р. Сылвы занимают около 70% площади, состоят из песка (<0.1 см), гравия, гальки и валунов (диаметром 0.1–1.5 м). Пробы эпилитона отбирали в середине августа 2016 г. выше г. Кунгура в районе учебно-научной базы «Предуралье» Пермского университета. Лето 2016 г. в Пермском крае по характеру погоды отличалось преобладанием очень теплой погоды и значительным дефицитом осадков. Средняя температура воздуха за лето 2016 г. превысила норму на 2.6°C. Самым жарким днем лета на большей части края стало 15 августа, до 35.6°C [Климатические..., 2016].

Для более полного анализа разнообразия водорослей и цианобактерий альгологические пробы отбирали в августе, при максимальном числе видов и биомассе альгоценозов [Беляева, 2014]. Пробы обрабатывали по общепринятым методам, описанным нами ранее [Беляева, 2004; Беляева и др., 2007]. Таксономическую принадлежность водорослей устанавливали по отечественным и зарубежным определителям и справочникам пресноводных водорослей [Забелина и др., 1951; Голлербах, Косинская, Полянский, 1953; Паламарь-Мордвинцева, 1982; Куликовский и др., 2016; Komárek, Fott, 1983; Krammer, Lange-Bertalot, 1986–1991; Komárek, Anagnostidis, 1999]. Назва-

ния таксонов приведены согласно классификации, принятой в серии «Определитель пресноводных водорослей СССР» [Забелина и др., 1951; Голлербах, Косинская, Полянский, 1953; Паламарь-Мордвинцева, 1982].

ДНК выделяли по методике, основанной на модифицированном методе щелочного выделения ДНК Бирнбойма-Доли и Wizard-технологии фирмы Promega (США) [Булыгина и др., 2002]. Очищенную ДНК хранили при –20°C.

Аmplification фрагментов генов, кодирующих 16S рРНК, проводили с помощью системы праймеров CYA106F (5' - CGG ACG GGT GAG TAA CGC GTG – 3'), CYA781R(a) (5' - GAC TAC TGG GGT ATC TAA TCC CAT T – 3') и CYA781R(b) (5' - GAC TAC AGG GGT ATC TAA TCC CTT T – 3') [Nübel, 1997]. Полученные ПЦР-продукты очищали от посторонних примесей и неспецифических продуктов реакции при помощи электрофореза в легкоплавкой агарозе с применением набора Wizard PCR Preps (“Promega”, США). Очищенные ПЦР-продукты лигировали в вектор pGEM-T Easy System (“Promega”, США), согласно рекомендациям производителя, и клонировали в штамме *E. coli* DH10B.

Секвенирование ПЦР-продуктов и клонированных фрагментов проводили на секвенаторе ABI3730 DNA Analyzer (“Applied Biosystems”, США) с использованием набора реактивов Big Dye Terminator v 3.1 Cycle Sequencing Kit (“Applied Biosystems”, США), согласно инструкции производителя.

Длина анализируемых последовательностей 16S рРНК составляла 470 нуклеотидов. Первичный сравнительный анализ полученных последовательностей проводили с помощью сервиса NCBI BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>). Последовательности были проверены на наличие химер с помощью сервиса Bellerophon [Huber et al., 2004]. Для построения филогенетических деревьев использовали программу MEGA 6.0 [Tamura et al., 2013].

Последовательности 16S рРНК были депонированы в GenBank под номерами KY274302–KY274361 (цианобактериальные) и KY282959–KY283040 (пластидные).

## Результаты и их обсуждение

В период с 2003 по 2016 гг. в р. Сылве в летнем эпилитоне наблюдалось значительное (в 10 раз) увеличение численности и биомассы цианобактерий родов *Snowella*, *Merismopedia* и *Gloeotrichia echinulata* P.G. Richter (таблица).

За этот же промежуток времени численность диатомовых сократилась в 2 раза (особенно *Navicula cryptocephala* Kütz. и *Synedra ulna* (Nitzsch) Ehrenb.). Однако они продолжают доми-

нирывать по биомассе, в частности, за счет получивших массовое распространение крупноклеточных *Amphora ovalis* (Kütz.) Kütz. и *Cocconeis placentula* Ehrenb.

Зеленые водоросли в многолетней динамике по данным за 2003–2016 гг. продолжают поддерживать и численность (10–15%), и биомассу (10–15%) на сравнительно стабильном уровне, в частности, благодаря широко распространенным в

планктоне и обрастаниях *Cosmarium botrytis* Meneg. ex Ralfs, *Pediastrum boryanum* (Turp.) Meneg. и *Closterium* spp. В конце аномально теплого лета 2016 г. в эпилитоне р. Сылвы выявлено 98 таксонов водорослей рангом ниже рода из трех основных отделов: Bacillariophyta (80% B; 40% N), Chlorophyta (15% B; 10% N) и Cyanophyta (5% B; 50% N).

#### Многолетняя динамика структуры эпилитона р. Сылвы (2003–2016 гг.)

Показатели	2003–2005 гг.	2012 г.	2014 г.	2016 г.
Численность, млрд. кл/ м <sup>2</sup>	8.9±3.6	10.8±4.1	5.0±1.2	4.6±0.4
Биомасса, г/м <sup>2</sup>	12.7±5.8	12.5±4.4	28.0±4.8	20.9±3.5
Количество видов	127	122	102	98
Доминантные и субдоминантные по биомассе (%B) и/или по численности (%N) и минорные виды водорослей	<b>Bacillariophyta:</b> 80%N; 88%B <i>Navicula cryptocephala</i> 15%N; 25%B, <i>Cocconeis placentula</i> 20%B, <i>Synedra ulna</i> 15%B, <i>Diatoma vulgare</i> 15%N; 5%B, <i>Achnanthes</i> spp. 15%N <b>Chlorophyta:</b> 15%N; 11.5%B <i>Cosmarium botrytis</i> 5%B, <i>Pediastrum boryanum</i> 2%N; 4%B, <i>Closterium</i> spp. 2%B <b>Cyanophyta / Cyanobacteria:</b> 5%N; 0.5%B <i>Planctolyngbya limnetica</i> , <i>Merismopedia</i> spp.	<b>Bacillariophyta:</b> 80% N; 85%B <i>Cocconeis placentula</i> 15%N; 50%B, <i>Diatoma vulgare</i> 10%B, <i>Epithemia sorex</i> 8%B, <i>Achnanthes</i> spp. 10–25%N <b>Chlorophyta:</b> 15%N; 14.5%B <i>Cosmarium</i> spp. 8%B, <i>Pediastrum boryanum</i> 6%B, <i>Crucigenia fenestrata</i> 8%N <b>Cyanophyta / Cyanobacteria:</b> 5%N; 0.5%B <i>Snowella rosea</i> , <i>Merismopedia</i> spp., <i>Anabaena contorta</i> , <i>Gloeotrichia echinulata</i>	<b>Bacillariophyta:</b> 70%N; 85%B <i>Cocconeis placentula</i> 10%N; 20%B, <i>Synedra ulna</i> 15%B, <i>Navicula cryptocephala</i> 10%N; 15%B, <i>Cymbella lanceolata</i> 10%B, <i>C. ventricosa</i> 5%N, <i>Achnanthes</i> spp. 15%N <b>Chlorophyta:</b> 15%N; 10%B <i>Pediastrum tetras</i> 4%B, <i>Pediastrum boryanum</i> 2%N; 5%B <b>Cyanophyta / Cyanobacteria:</b> 15%N; 5%B <i>Merismopedia</i> spp. 10%N, <i>Planctolyngbya limnetica</i> , <i>Snowella rosea</i> , <i>Anabaena</i> spp.	<b>Bacillariophyta:</b> 40%N; 80%B <i>Amphora ovalis</i> 40%B, <i>Cocconeis placentula</i> 10%N; 25%B, <i>Diatoma vulgare</i> 6%B, <i>Achnanthes</i> spp. 20%N, <i>Cymbella ventricosa</i> , <i>Melosira varians</i> , <i>Nitzschia amphibia</i> <b>Chlorophyta:</b> 10%N; 15%B <i>Scenedesmus</i> spp. 6%N, <i>Pediastrum boryanum</i> 2%N; 5%B, <i>Closterium</i> spp. 5%B, <i>Cosmarium botrytis</i> 3%B <b>Cyanophyta / Cyanobacteria:</b> 50%N; 5%B <i>Snowella rosea</i> 20%N, <i>Merismopedia</i> spp. 13%N, <i>Gloeotrichia echinulata</i> 8%N, <i>Oscillatoria</i> spp. 5%N, <i>Calothrix</i> spp.

Филогенетический анализ разнообразия альгобактериальных сообществ эпилитона р. Сылвы по результатам сравнения последовательностей генов 16S рРНК из библиотеки клонированных ПЦР-фрагментов, был проведен достаточно эффективно, идентифицировано 142 клона, 80 отнесено к диатомовым и 2 к зеленым водорослям, 60 – к цианобактериям (рис. 1, 2). На филогенетическом древе клоны с высокой степенью достоверности формировали обособленные кластеры. Основу альгофлоры эпилитона р. Сылвы составили широко распространенные пресноводные виды и космополиты (более 80% видового разнообразия), как правило, многочисленные в 16S рРНК-клонотеках пресноводных и морских экосистем [Nübel, Garcia-Pichel, Muyzer, 1997; Nübel et al., 2000; O'Sullivan, Weightmann, Fry, 2002; Bricheux et al., 2013; Lindemann et al., 2013; Komárek et al., 2014].

С использованием «специфичных» праймеров для 16S рРНК цианобактерий на древе филогении были выявлены последовательности генов 16S рРНК фрагментов пластидных геномов пресноводных зеленых водорослей порядка *Desmidiiales* рода *Cosmarium* (*C. botrytis*) (рис. 1). Для них характерно наличие примитивных архепластид, чрезвычайно разнообразие типов строения клеток и видов рода *Cosmarium* (более 200), широкое распространение в обрастаниях макрофитов и камней, в планктоне и бентосе [Паламарь-Мордвинцева, 1982; Keeling, 2013]. Последовательности генов 16S рРНК фрагментов хлоропластных геномов Chlorophyta, однако, филогенетически удалены (как и ядерные геномы) от неродственных Bacillariophyta, у которых пластиды были образованы в высоко развитых формах с кремневым панцирем лишь при третичном эндосимбиозе [Bhattacharya, Medlin, 1995; Keeling, 2013].

В фрагментах генов 16S рРНК, локализованных в хлоропластных геномах *Vacillariophyta* в эпилите р. Сылвы, выявлено две филогенетически обособленные ветви клонов представителей диатомей с разным строением панциря и отношением к солености воды (рис. 1). Единичные представители гетерогенной ветви из 5 родов принадлежат к древнему классу *Centricae* с панцирем радиального строения (20 клонов: 18 родственны минорным солоноватоводным-морским, эвригаллиным *Melosira varians* и *Aulacoseira (Melosira) granulata*).

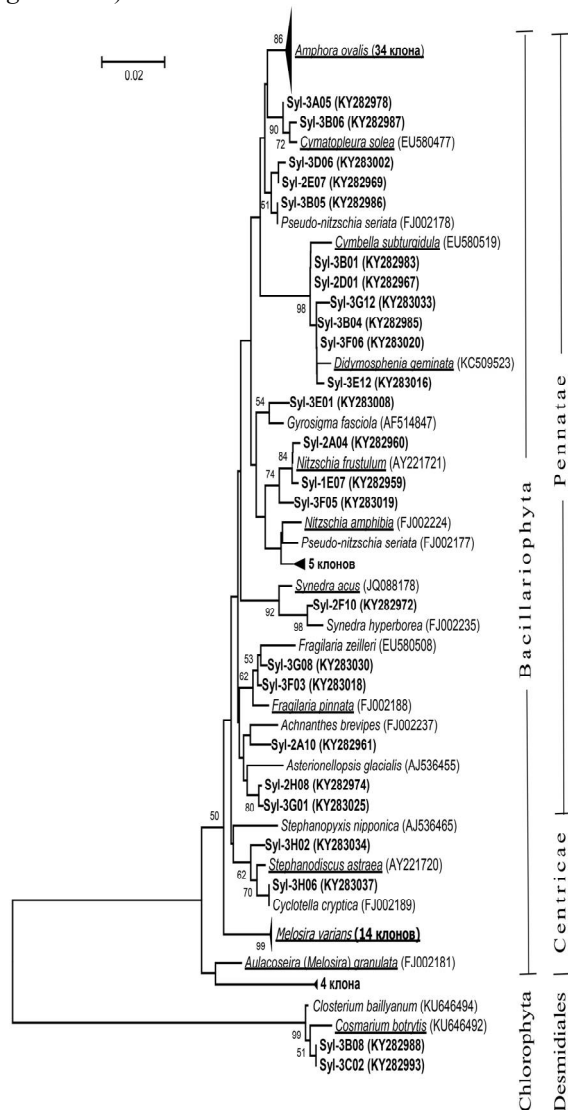


Рис. 1. Дендрограмма сравнения последовательностей генов 16S рРНК пластид диатомовых и стрептофитовых водорослей эпилита р. Сылвы

Дендрограмма построена путем сравнения последовательностей длиной 470 нуклеотидов на основании анализа 1000 альтернативных деревьев, алгоритм построения Neighbour-Joining. Цифры указывают достоверность ветвления на основании bootstrap – анализа. Масштабная линейка – 2 нуклеотидные замены на каждые 100 нуклеотидов. Подчеркнуты виды, выявленные и молекулярными, и морфологическими методами

Большинство нуклеотидных последовательностей 16S рРНК на дереве филогении отнесено к классу *Pennatae* (панцирь моносимметричного строения с перистой структурой). Из 60 фрагментов пластидных геномов диатомей у 34 выявлено сходство с доминантными пресноводными крупноклеточной *Amphora ovalis*, 6 – субдоминантными пресноводными *Cymbella subturgidula/ Didymosphenia geminata*, 8 – минорными эвригаллиными *Nitzschia amphibia/ N. frustulum*. Около 80% видов диатомовых были детектированы в эпилите и морфологическими, и молекулярными методами.

Суанопхита/Суанобактерия эпилита р. Сылвы характеризуются морфологическим многообразием пресноводных видов. Морфологические признаки цианобактерий эпилита слабо согласовались с их филогенией на основе сравнения нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК. У этих наиболее древних окислительных фототрофов таксономически значимый ключевой фермент фотоассимиляции углекислоты (RubisCO) несовершенен, обладает очень низким сродством к  $\text{CO}_2$ , локализуется в специфических включениях цитоплазмы – карбоксисомах  $\alpha$ - и  $\beta$ -типа, соответственно у  $\alpha$ - и  $\beta$ -цианобактерий [Badger, Hanson, Price, 2002; Espie, Kimber, 2011; Rae et al., 2013].

Согласно филогенетическому анализу последовательностей генов 16S рРНК, клоны цианобактерий вошли в две гетерогенные ветви, состоящие из нескольких довольно обособленных кластеров (рис. 2). Большинство клонов первой ветви (75%) проявили высокий уровень сходства с  $\beta$ -цианобактериями (с карбоксисомами  $\beta$ -типа) класса *Normogoneae* порядка *Nostocales* с варьирующими значениями бутстреп-поддержки (92–99%). Только представителям *Normogoneae* присущи плазмодесмы – тончайшие протоплазматические тяжи, соединяющие соседние клетки в единое целое в форме многоклеточного нитчатого трихома [Голлербах, Косинская, Полянский, 1953; Вассер и др., 1989; Komárek et al., 2014].

Основной кластер (45 клонов) примыкает к азотфиксирующим минорным видам эпилита порядка *Nostocales* (*Calothrix*, *Nostoc*, *Tolypothrix*), формирующих асимметричные трихомы с гетероцистами. Представители этих родов широко распространены на водорослях и макрофитах, камнях и скалах [Вассер и др., 1989].

К основному кластеру порядка *Nostocales* примыкает обособленный кластер из 5 клонов, родственных доминантным в эпилите р. Сылвы видам *Snowella* класса *Chroococcaceae* порядка *Chroococcales*. У видов рода *Snowella* (*S. rosea*, *S. litoralis*), хотя плазмодесмы отсутствуют, но шаровидные клетки диаметром 3–4 мкм в слизистых колониях располагаются на тонких радиальных разветвлениях–ножках [Голлербах, Косинская, Полянский,

1953]. На периферии первой группы клонов выявлен клон, родственный недостаточно описанному штамму *Oscillatoria* sp. KNUA009 порядка *Oscillatoriales*, объединяющего безгетероцистных представителей класса *Hormogoneae* [Komárek et al., 2014].

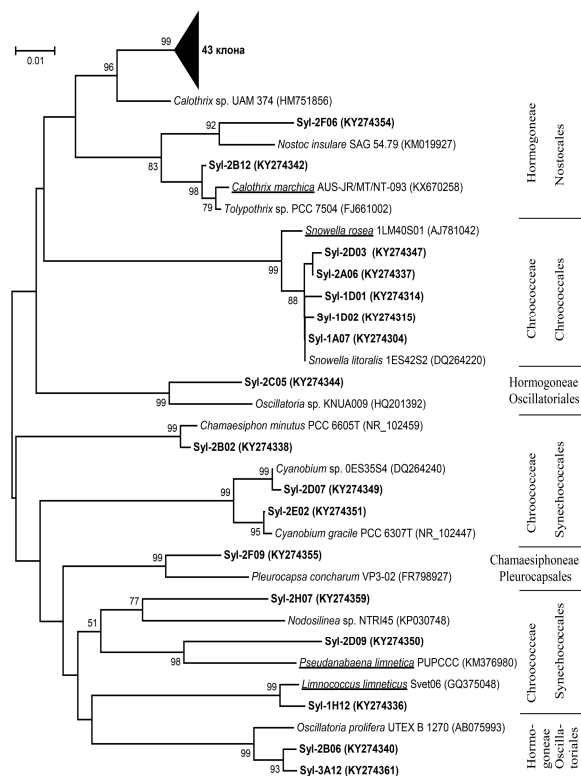


Рис. 2. Дендрограмма сравнения последовательностей генов 16S рНК цианобактерий эпилимтона р. Сылвы

Дендрограмма построена путем сравнения последовательностей длиной 470 нуклеотидов на основании анализа 1000 альтернативных деревьев, алгоритм построения Neighbour-Joining. Цифры указывают достоверность ветвления на основании bootstrap – анализа. Масштабная линейка – 2 нуклеотидные замены на каждые 100 нуклеотидов. Подчеркнуты виды, выявленные и молекулярными, и морфологическими методами

Другие клоны эпилимтона, близкие  $\alpha$ -цианобактериям (с карбоксисомами  $\alpha$ -типа) рода *Oscillatoria*, включая холодноводную *O. prolifera*, вошли во вторую малочисленную группу. Тем не менее, в нее включены морфологически, метаболически и таксономически разнообразные представители классов *Hormogoneae*, *Chroococcaceae*, *Chamaesiphoneae*, порядков *Oscillatoriales*, *Synechococcales*, *Pleurocapsales* и 5 родов (*Oscillatoria*, *Limnococcus* (*Chroococcus*), *Pleurocapsa*, *Cyanobium*, *Chamaesiphon* (*Sphaerogonium*)) с высоким значением бутстреп-поддержки – 99%). Молекулярные исследования последних лет, секвенирование генов большо-

го числа видов, полное секвенирование геномов позволило внести существенные коррективы в предшествующие филогенетические системы цианобактерий, в расстановку большого числа видов внутри других родов, семейств, порядков и даже классов [Komárek et al., 2014].

## Заключение

Впервые в эпилимтоне предгорной р. Сылвы осуществлена параллельная оценка биоразнообразия альго-бактериальных сообществ с использованием современных методов молекулярной экологии и общепринятых в альгологии морфоцитологических методов.

Согласно филогенетическому анализу последовательностей генов 16S рНК, большинство клонов *Cyanobacteria* (75%) проявили высокий уровень сходства с представителями порядка *Nostocales* класса *Hormogoneae*, с азотфиксирующими видами эпилимтона, относящихся к  $\beta$ -цианобактериям (с карбоксисомами  $\beta$ -типа). Морфо-таксономические признаки *Cyanobacteria* слабо согласовались с их филогенией на основе сравнения последовательностей генов 16S рНК.

Среди *Vacillariophyta* в эпилимтоне р. Сылвы явно преобладает пресноводная крупноклеточная *Amphora ovalis* (класс *Pennatae* – с панцирями монотрихного строения). Представители второй гетерогенной ветви принадлежат к древнему классу *Centricae* с панцирем радиального строения, родственных минорным солоноватоводным-морским, эвригалинным *Melosira varians* и *Aulacoseira* (*Melosira*) *granulata*. Установлено, что диатомовые водоросли сравнительно полно детектируются и современными молекулярными *in situ* методами и традиционными морфологическими методами водной альгологии. Результаты исследования фрагментов генов 16S рНК, локализованных в хлоропластных геномах *Vacillariophyta*, хорошо согласовались с их естественной филогенетической системой, основанной на морфологии и детальной структуре кремневого панциря.

Секвенирование ПЦР-продуктов и клонированных фрагментов выполнено на оборудовании ФГБУН Центр «Биоинженерия» РАН, Москва.

## Библиографический список

- Беляева П.Г. Фитоперифитон предгорной реки Сылва (бассейн Камы) // Ботанический журнал. 2004. Т. 89, № 3. С. 435–449.
- Беляева П.Г. Состав и структура фитоперифитона реки Сылва (Пермский край) // Ботанический журнал. 2014. Т. 99, № 8. С. 903–916.
- Беляева П.Г. и др. Функциональная роль перифитона предгорной реки Сылва (бассейн р. Камы)

- // Биология внутренних вод. 2007. № 3. С. 32–40.
- Булыгина Е.С. и др. Изучение нуклеотидных последовательностей *nifH* генов у представителей метанотрофных бактерий // Микробиология. 2002. Т. 71, № 4. С. 425–432.
- Вассер С.П. и др. Водоросли. Киев, 1989. 608 с.
- Голлербах М.М., Косинская Е.К., Полянский В.И. Определитель пресноводных водорослей СССР. Синезеленые водоросли. М., 1953. Вып. 2. 652 с.
- Забелина М.М. и др. Определитель пресноводных водорослей СССР. Диатомовые водоросли. М., 1951. 619 с.
- Климатические особенности лета 2016 г. в Пермском крае [Электронный ресурс] URL: <http://accident.perm.ru/index.php/novosti/854-summer-2016>. (дата обращения: 31.08.2016).
- Куликовский М.С. и др. Определитель диатомовых водорослей России. Ярославль: Филигрань, 2016. 804 с.
- Паламарь-Мордвинцева Г.М. Определитель пресноводных водорослей СССР. Зеленые водоросли. Класс Конъюгаты. Порядок Десмидиевые. М., 1982. Вып. 11, ч. 2. 620 с.
- Саралов А.И. и др. Азотфиксация и денитрификация в планктоне и перифитоне водотоков Камского бассейна // Биология внутренних вод. 2010. № 2. С. 13–19.
- Семейкина П.И. и др. Состав альгобактериального сообщества эпилимнона предгорной реки Сылва // Российский иммунологический журнал. 2015. Т. 9 (18), вып. 2(1). С. 606–608.
- Badger M.R., Hanson D., Price G.D. Evolution and diversity of CO<sub>2</sub> concentrating mechanisms in cyanobacteria // *Functional Plant Biology Journal*. 2002. Vol. 29(2–3). P. 161–173.
- Bhattacharya D., Medlin L. The phylogeny of plastids: a review based on comparisons of small-subunit ribosomal RNA coding regions // *Journal of Phycology*. 1995. Vol. 31. P. 489–498.
- Bricheux G. et al. Pyrosequencing assessment of prokaryotic and eukaryotic diversity in biofilm communities from a French river // *Microbiology Open*. 2013. Vol. 2 (3). P. 402–414.
- Espie G.S., Kimber M.S. Carboxysomes: cyanobacterial RubisCO comes in small packages // *Photosynthesis Research*. 2011. Vol. 109(1–3). P. 7–20.
- Huber T., Faulkner G., Hugenholtz P. Bellerophon: a program to detect chimeric sequences in multiple sequence alignments // *Bioinformatics*. 2004. Vol. 20(14). P. 2317–2319.
- Keeling P.J. The number, speed, and impact of plastid endosymbioses in eukaryotic evolution // *Annual Review of Plant Biology*. 2013. Vol. 64. P. 583–607.
- Komárek J., Anagnostidis K. Cyanoprokaryota. Chroococcales. Süßwasserflora von Mitteleuropa. Jena: Fischer-Verlag, 1999. Bd. 19. T. 1. 548 p.
- Komárek J., Fott B. Chlorophyceae (Gruenalgen), Ordnung: Chlorococcales. Stuttgart: E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung [Nägele und Obermiller], 1983. Bd. 16. T. 7. H. 1. 1044 S.
- Krammer K., Lange-Bertalot H. Bacillariophyceae // Süßwasserflora von Mitteleuropa. Eds. by H. Ettl, J. Gerloff, H. Heying, D. Mollenhauer. Stuttgart-Jena: G. Fischer Verlag, 1986. Bd 2/1. 876 S.; 1988. Bd 2/2. 596 S.; 1991. Bd 2/3. 576 S.; 1991. Bd 2/4. 473 S.
- Komárek J. et al. Taxonomic classification of Cyanoprokaryotes (Cyanobacterial genera), using a polyphasic approach // *Preslia*. 2014. Vol. 86. P. 295–335.
- Lindemann S.R. et al. The epsomitic phototrophic microbial mat of Hot Lake, Washington: community structural responses to seasonal cycling // *Frontiers in Microbiology*. 2013. Vol. 4. P. 1–17.
- NCBI BLAST: The National Center for Biotechnology Information. 2016. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>. (дата обращения: 31.08.2016).
- Nübel U. et al. Matching molecular diversity and eco-physiology of benthic cyanobacteria and diatoms in communities along a salinity gradient // *Environmental Microbiology*. 2000. Vol. 2. P. 217–226.
- Nübel U., Garcia-Pichel F., Muyzer G. PCR primers to amplify 16S rRNA genes from Cyanobacteria // *Applied and Environmental Microbiology*. 1997. Vol. 63(8). P. 3327–3332.
- O'Sullivan L.A., Weightmann A.J., Fry J.C. New degenerate Cytophaga-Flexibacter-Bacteroides-specific 16S ribosomal DNA-targeted oligonucleotide probes reveal high bacterial diversity in river taff epilithon // *Applied and Environmental Microbiology*. 2002. Vol. 68. P. 201–210.
- Rae B.D. et al. Functions, compositions, and evolution of the two types of carboxysomes: polyhedral microcompartments that facilitate CO<sub>2</sub> fixation in Cyanobacteria and some Proteobacteria // *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2013. Vol. 77(3). P. 357–379.
- Tamura K. et al. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0 // *Molecular biology and evolution*. 2013. Vol. 30(12). P. 2725–2729.

## References

- Badger M.R., Hanson D., Price G.D. [Evolution and diversity of CO<sub>2</sub> concentrating mechanisms in cyanobacteria]. *Funct. Plant Biol.* V. 29, Iss. 2–3 (2002): pp. 161–173.
- Belyaeva P.G. [Phytoperiphyton in the foothill Sylva River (the Kama Basin)]. *Botaničeskij žurnal*. V. 89, N 3 (2004): pp. 101–115. (In Russ.).

- Belyaeva P.G. [Composition and structure of phytoplankton in the Sylva river (Perm territory)]. *Botaničeskij žurnal*. V. 99, N 8 (2014): pp. 903–916. (In Russ.).
- Belyaeva, P.G., Saralov, A.I., Chikin, S.M., Bannikova, O.M. [The Functional Role of Periphyton in the Piedmont Sylva River (the Kama Basin)]. *Biologija vnutrennich vod*. N 3 (2007): pp. 32–40. (In Russ.).
- Bhattacharya D., Medlin L. The phylogeny of plastids: a review based on comparisons of small-subunit ribosomal RNA coding regions. *Journal of Phycology*. V. 31 (1995): pp. 489–498. DOI: 10.1111/j.1529-8817.1995.tb02542.x.
- Bricheux G., Morinh., Le Moal G., Coffe G., Balestrino D., Charbonnel N., Bohatier J., Forestier C. Pyrosequencing assessment of prokaryotic and eukaryotic diversity in biofilm communities from a French river. *Microbiology Open*. V. 2, N 3 (2013): pp. 402–414. DOI: 10.1002/mbo3.80.
- Bulygina E.S., Kuznetsov B.B., Marusina A.I., Turova T.P., Kravchenko I.K., Bykova S.A., Kologanova T.V., Galchenko V.F. [Study of nucleotide sequences of *nifH* genes in methanotrophic bacteria]. *Microbiologija*. V. 71, N 4 (2002): pp. 425–432. (In Russ.).
- Klimatičeskie osobennosti leta 2016 g. v Permskom krae* [Climatic features of the summer of 2016 in the Perm kray]. Available at: <http://accident.perm.ru/index.php/novosti/854-summer-2016>. (accessed 31.08.2016). (In Russ.).
- Espie G.S., Kimber M.S. Carboxysomes: cyanobacterial RubisCO comes in small packages. *Photosynthesis Research*. V. 109, N 1–3 (2011): pp. 7–20. DOI:10.1007/s11120-011-9656-y.
- Gollerbach M.M., Kosinskaia E.K., Polianskii V.I. *Opredelitel' presnovodnykh vodorosley SSSR. Sinezelenyye vodorosli* [Identification guide for freshwater algae of the USSR. Bluegreen algae]. Moscow, 1953, V. 2. 652 p. (In Russ.).
- Huber T., Faulkner G., Hugenholtz P. Bellerophon: a program to detect chimeric sequences in multiple sequence alignments. *Bioinformatics*. V. 20, N 14 (2004): pp. 2317–2319.
- Keeling P.J. The number, speed, and impact of plastid endosymbioses in eukaryotic evolution. *Annual Review of Plant Biology*. V. 64 (2013): pp. 583–607.
- Komárek J., Kašrovský J., Mareš J., Johansen J.R. Taxonomic classification of Cyanoprokaryotes (Cyanobacterial genera), using a polyphasic approach. *Preslia*. V. 86, N 4 (2014): pp. 295–335.
- Kulikovsky M.S., Glushchenko A.M., Genkal S.I., Kuznetsova I.V. *Opredelitel' diatomovykh vodorosley Rossii* [Identification book of diatoms from Russia]. Yaroslavl, Filigran Publ., 2016. 804 p. (In Russ.).
- Lindemann S.R., Moran J.J., Stegen J.C. et al. The epsomitic phototrophic microbial mat of Hot Lake, Washington: community structural responses to seasonal cycling. *Frontiers in Microbiology*. V. 4 (2013): pp. 1–17.
- NCBI BLAST: The National Center for Biotechnology Information. 2016. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>. (accessed 31.08.2016).
- Nübel U., Garcia-Pichel F., Muyzer G. PCR primers to amplify 16S rRNA genes from Cyanobacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. V. 63, N 8 (1997): pp. 3327–3332.
- Nübel U. Garcia-Pichel F., Clavero E., Muyzer G. Matching molecular diversity and ecophysiology of benthic cyanobacteria and diatoms in communities along a salinity gradient. *Environmental Microbiology*. V. 2 (2000): pp. 217–226.
- O'Sullivan L.A., Weightmann A.J., Fry J.C. New degenerate Cytophaga-Flexibacter-Bacteroides-specific 16S ribosomal DNA-targeted oligonucleotide probes reveal high bacterial diversity in river taff epilithon. *Applied and Environmental Microbiology*. V. 68, N 1 (2002): pp. 201–210. DOI: 10.1128/AEM.68.1.201-210.2002.
- Palamar-Mordvinceva G.M. *Opredelitel' presnovodnykh vodorosley SSSR. Zelenyye vodorosli. klass kon'yugaty, poryadok desmidiyevyye* [Identification guide for freshwater algae of the USSR. Green algae. Classis Conjugatophyceae. Order Desmidiiales]. Moscow. 1982. V. 11 (2). 620 p. (In Russ.).
- Rae B.D., Long B.M., Badger M.R., Price G.D. Functions, compositions, and evolution of the two types of carboxysomes: polyhedral microcompartments that facilitate CO<sub>2</sub> fixation in Cyanobacteria and some Proteobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. V. 77, N 3 (2013): pp. 357–379.
- Saralov A.I., Galiamina V.V., Belyaeva P.G., Molkov D.V. [Nitrogen fixation and denitrification in plankton and periphyton of the Kama River Basin watercourses]. *Biologija vnutrennich vod*. V. 3, N. 2 (2010): pp. 112–118. (In Russ.).
- Semeikina P.I., Beliaeva P.G., Kozaeva V.V., Kuznetsov B.B. [Species composition of the algae and bacteria community of the piedmont Sylva river's epilithon]. *Russian Journal of Immunology*. V. 9(18), N 2(1) (2015): pp. 606–608. (In Russ.).
- Tamura K., Stecher, G., Peterson D., Filipinski A., Kumar S. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and evolution*. V. 30, N 12 (2013): pp. 2725–2729.

Vasser S.P., Kondrateva N.V., Masyuc N.P. et al. *Algae* [Algae.] Kiev, Naukova Dumka Publ., 1989. 608 p. (In Russ.).  
Zabelina M.M., Kiselev I.A., Proshkina-Lavrenko A.I., Sheshukova V.S. *Opredelitel' presnovodnykh*

*vodorosley SSSR. Diatomovyye vodorosli* [Identification guide for freshwater algae of the USSR. Diatom algae]. Moscow, 1951. 619 p. (In Russ.).

Поступила в редакцию 26.12.2017

#### Об авторах

Саралов Александр Иванович, доктор биологических наук, зав. лабораторией водной микробиологии  
«Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН  
**ORCID:** 0000-0002-2698-9238  
614081, Пермь, ул. Голева, 13; saralov@iegm.ru; (342)2808332

Беляева Полина Геннадьевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории водной микробиологии «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН  
**ORCID:** 0000-0001-6741-0424  
614081, Пермь, ул. Голева, 13; belyaeva@psu.ru

#### About the authors

Saralov Aleksandr Ivanovich, doctor of biology, Head of the Laboratory of aquatic microbiology Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms UB RAS.  
**ORCID:** 0000-0002-2698-9238  
13, Golev str., Perm, Russia, 614081; saralov@iegm.ru; (342)2808332

Belyaeva Polina Gennadiyevna, candidate of biology, senior researcher of the Laboratory of aquatic microbiology Institute of Ecology and Genetics of Microorganism UB RAS.  
**ORCID:** 0000-0001-6741-0424  
13, Golev str., Perm, Russia, 614081; belyaeva@psu.ru

#### Информация для цитирования:

Саралов А.И., Беляева П.Г. Оценка разнообразия цианобактерий и водорослей эпилитона р. Сылвы (Пермский край) морфологическими и молекулярными методами // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2018. Вып. 1. С. 97-104. DOI: 10.17072/1994-9952-2018-1-97-104.

Saralov A.I., Belyaeva P.G. [Diversity assessment of Cyanobacteria and algae of Sylva river epiliton (Perm kray) by morfological and molecular metods]. *Vestnik Permskogo universiteta. Biologija*. Iss. 1 (2018): pp. 97-104. (In Russ.). DOI: 10.17072/1994-9952-2018-1-97-104.



