

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ФИЛОГЕНИЯ МОРСКИХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДОВ *PRASIOLOA* И *ROSENVINGIELLA* (CHLOROPHYTA: PRASIOLALES) ЮГО-ВОСТОЧНОЙ КАМЧАТКИ*

© 2017 г. Т. А. Клочкова^{1,2}, Н. Г. Клочкова¹, Г. Х. Ким²

¹Камчатский государственный технический университет, Петропавловск-Камчатский 683003;

²Национальный университет Конджу, Конджу, Республика Корея 314-701

e-mail: ¹tatyana_algae@mail.ru; ²ghkim@kongju.ac.kr

Статья принята к печати 19.05.2016 г.

Молекулярно-филогенетический анализ часто используют для обнаружения одинаковых по морфологии, но генетически различающихся "скрытых" видов, однако он может успешно применяться и для определения видовой принадлежности разных морфотипов одного биологического вида. В настоящей статье приведены данные молекулярно-филогенетического анализа камчатских супралиторальных видов морских зеленых водорослей, принадлежащих отряду Prasiolales (Trebouxiophyceae, Chlorophyta). На основе анализа нуклеотидных последовательностей гена *rbcL* на Камчатке впервые найдены два новых вида прازیоловых водорослей. В природе 1.4% растений *Rosenvingiella constricta* выглядели как однослойные капюшончатые пластины, но их сходство по гену *rbcL* с растениями этого вида с типичной морфологией (многорядные нити с перетяжками) составило 100%. Для камчатской популяции *R. constricta* выявлено 99.4–99.6% сходства по *rbcL* с популяциями данного вида из Канады и Новой Зеландии. Для другого морфологически схожего вида *Rosenvingiella* sp., собранного в этом же местообитании, показано 93.5% сходства по *rbcL* с видом *R. constricta*. Результаты морфологического и географического анализа свидетельствуют о том, что он может быть новым для рода *Rosenvingiella*. Впервые на Камчатке обнаружен вид *Prasiola delicata*. Сходство по *rbcL* камчатской популяции *P. delicata* с популяцией из Ванкувера составило 100%, однако эти растения различаются морфологически.

Ключевые слова: ген *rbcL*, Камчатка, молекулярная филогения, морские водоросли, распространение, *Prasiola*, *Rosenvingiella*.

Molecular phylogeny of the marine *Prasiola* and *Rosenvingiella* species (Chlorophyta: Prasiolales) from south-eastern Kamchatka. T. A. Klochkova^{1,2}, N. G. Klochkova¹, G. H. Kim² (¹Kamchatka State Technical University, Petropavlovsk-Kamchatski 683003; ²Department of Biology, Kongju National University, Kongju 314–701, Korea)

Molecular phylogenetic tools are often useful in distinguishing cryptic species with similar morphologies, but they can also be helpful in identifying morphotypes of a species, which displays completely different shapes. We performed molecular-phylogenetic analysis of supra-tidal green algae in Kamchatka Peninsula that belong to the order Prasiolales (Trebouxiophyceae, Chlorophyta). Based on *rbcL* sequences results, two new species were recorded for the first time in Kamchatka. About 1.4% of the field-collected *Rosenvingiella constricta* had a unique uniseriate hood-like blade shape, although their *rbcL* sequences were 100% identical with typical multiseriate filamentous plants. Kamchatka's population of *R. constricta* showed 99.4–99.6% identity in *rbcL* sequences with the populations from Canada and New Zealand. Another similar-looking *Rosenvingiella* species collected from the same locality had 93.5% identity of *rbcL* gene sequence with *R. constricta*. Morphological and geographical analyses also suggested that this species might be a new species of the genus *Rosenvingiella*. *Prasiola delicata* was recorded for the first time in Kamchatka. The Kamchatka population of *P. delicata* showed 100% identity in *rbcL* gene sequence with the population from Vancouver, but differed from the Canadian population morphologically. (Biologiya Morya, 2017, vol. 43, no. 1, pp. 24–31).

Keywords: *rbcL*, Kamchatka, molecular phylogeny, marine algae, distribution, *Prasiola*, *Rosenvingiella*.

Представители порядка Prasiolales (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) принадлежат к одной из наиболее распространенных групп зелёных водорослей, которая объединяет морские, пресноводные и почвенные виды, обитающие в полярных, антарктических, холодно- и теплоумеренных, а также тропических регионах (Kornmann, Sahling, 1974; Becker, 1982; Naw, Hara, 2002; Rindi et al., 2004; Н. Клочкова и др., 2009; Kim et al., 2015;

Т. Клочкова и др., 2015). В этом порядке самым многочисленным по количеству видов является род *Prasiola* (C. Agardh) Meneghini, включающий 34 вида морских, пресноводных и почвенных водорослей (Guiry, Guiry, 2016). Наиболее тесно он связан с другим родом данного порядка – *Rosenvingiella* Silva, включающим шесть видов (Guiry, Guiry, 2016). Морфология прازیоловых водорослей характеризуется определенным разнообразием

* Исследования выполнены при поддержке гранта "Golden Seed Project, Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs (MAFRA), Ministry of Oceans and Fisheries (MOF), Rural Development Administration (RDA) and Korea Forest Service (KFS)", а также проекта "Development of selection techniques of suitable industrial variety in Korean coast", финансируемого Ministry of Oceans and Fisheries, Korea, to GHK.

и высокой фенотипической пластичностью, зависящей от факторов окружающей среды (Rindi, 2007). В этой группе водорослей были зарегистрированы так называемые скрытые (криптические) виды, не отличающиеся друг от друга морфологически и анатомически, произрастающие, как правило, в одном местообитании, но имеющие значительные генетические различия, позволяющие возводить их в статус новых видов (Moniz et al., 2012b). В природе растения родов *Prasiola* и *Rosenvingiella* часто находили вместе, а в ходе лабораторного культивирования их представителей было отмечено замещение морфологии типа "rosenvingiella" на тип "prasiola". Это позволило некоторым исследователям предположить, что *Rosenvingiella* является стадией в развитии или формой существования *Prasiola* (Børgesen, 1902; Friedmann, 1959; Bravo, 1962, 1965; Edwards, 1975; Виноградова, 1979; Burrows, 1991). Однако другие исследователи опровергают это утверждение, основываясь на молекулярно-филогенетических различиях между видами прازیоловых водорослей (Rindi et al., 2004; Moniz et al., 2012a).

В современной альгологии систематика представителей отдела Prasiolales является объектом пристального внимания. Интерес к этой группе вполне объясним, так как прازیоловые водоросли используются для изучения влияния экстремальных факторов среды (Jackson, Seppelt, 1995; Lud et al., 2001; Hunt, Denny, 2008; Kosugi et al., 2010; Holzinger, Karsten, 2013) и представляют интерес для промышленной биотехнологии (Hoyer et al., 2001; Karsten et al., 2005; Hartmann et al., 2016). При этом справедливо отметить, что применение молекулярно-филогенетических методов породило, скорее, больше вопросов, чем ответов, поскольку в данной таксономической группе морфологические признаки видов часто противоречат результатам генетического анализа. Наиболее часто используемым ДНК-маркером для этой группы является ген *rbcl* (Rindi et al., 2004), но при возникновении спорных ситуаций анализируют гены *psaB* и *tufA* (Moniz et al., 2012a, b, 2014).

В ходе проведения полевых исследований на юго-восточной Камчатке были обнаружены виды, предварительно определенные нами как *Prasiola delicata* Setchell et Gardner и *Rosenvingiella constricta* (Setchell et Gardner) Silva (Т. Клочкова и др., 2015). Оказалось, что этим видам свойственна уникальная способность к восстановлению активной жизнедеятельности и размножению автоспорами после экстремально длительного обезвоживания (Т. Клочкова и др., 2015). В ходе лабораторного культивирования *R. constricta* мы обнаружили два разных морфотипа растений. Первый морфотип представлял собой типичные многорядные нитчатые талломы с перетяжками, второй – маленькие капюшончатые пластины, причем в природе оба морфотипа развивались в одной популяции. В лабораторных условиях у растений обоих морфотипов формировались автоспоры, из которых вырастали одинаковые по морфологии нитчатые талломы (Т. Клочкова и др., 2015). Исходя из этого, мы

предположили, что в природе в камчатской популяции *R. constricta* формируются талломы двух разных морфотипов, однако для полной уверенности необходимо было провести анализ ДНК каждого морфотипа. В связи с этим цель данной статьи – молекулярно-филогенетическое исследование камчатских представителей родов *Prasiola* и *Rosenvingiella*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Водоросли для исследования собирали 7 августа 2011 г. на о-ве Старичков (Авачинский залив) и 13 июля 2013 г. на небольшом кекуре в горле Авачинской губы. На о-ве Старичков в супралиторальной зоне были собраны виды *Prasiola delicata* (узкие лентообразные растения) и *Rosenvingiella constricta* (многорядные нити с перетяжками и капюшончатые пластины), вид *Rosenvingiella* sp. был собран в горле Авачинской губы. Перед началом лабораторного культивирования растения распределяли на группы, чтобы исключить смешивание разных морфотипов в пробах. Чашки Петри с образцами переносили в инкубационный шкаф ёмкостью 2 м³, в котором поддерживались постоянная температура 15°C и освещение 30 мкмоль фотон/(м² с) при фотопериоде 12 ч свет : 12 ч темнота. Подробно методика культивирования этих образцов описана нами ранее (Т. Клочкова и др., 2015).

В естественных условиях популяция *P. delicata*, более чем на 99% состоявшая из растений только этого вида (без примеси *R. constricta*), росла изолированно. Другая популяция состояла лишь из *R. constricta*, причем 98.6% растений этой популяции отнесены к морфотипу "constricta", а 1.4% растений – к морфотипу "prasiola". Таким образом, единичные растения морфотипа "prasiola" можно было легко распознать и отделить. Все матричные растения тщательно промывали тонкой кисточкой в стерильной морской воде. Кроме водорослей из естественных популяций использовали молодые проростки, полученные в ходе лабораторного культивирования обоих морфотипов *R. constricta*.

Выделение ДНК проводили с использованием стандартного набора реактивов согласно протоколу фирмы-производителя (Intron Biotech, Seoul, Korea). Для проведения ПЦР использовали праймеры PF2 (TTCGTATGACTCCTCAATCAG) и PR2 (TTACATGCTGCACGAATA) (Rindi et al., 2004). Были заданы следующие параметры программы: первичная денатурация при 95°C в течение 4 мин → 35 циклов амплификации (денатурация при 94°C в течение 30 с, отжиг праймера при 55°C в течение 30 с и элонгация при 72°C в течение 1 мин) → достройка цепей при 72°C в течение 10 мин. Продукты ПЦР выделяли из полиакриламидного геля набором реактивов Gel extraction kit (Qiagen, Valencia, CA, USA). Секвенирование проводили в термодинамической реакции с наборами реактивов ALFexpress AutoRead Sequencing Kit (Amersham Pharmacia Biotech) или CycleReader™ Auto DNA Sequencing Kit (MBI Fermentas).

Поиск в базе данных NCBI (National Center for Biotechnology Information, 2016) осуществляли с помощью программ из пакета BLASTn (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>). Полученные нами новые нуклеотидные последовательности и известные последовательности из NCBI выравнивали в программе "Geneious" (ver. 7.1.8, Biomatters, Auckland), используя алгоритм MUSCLE Alignment. Молекулярно-филогенетические деревья реконструировали Байесовским методом (MrBayes 3.2.2; Ronquist, Huelsenbeck, 2001) с использованием следующих параметров: модель замещения GTR, 3 000 000 поколений, длина burn-in

– 300 000 поколений. Анализ максимального правдоподобия выполнен в программе RAxML 7.2.8 (Stamatakis, 2014) с использованием модели замещения GTR+gamma. Устойчивость древ оценивали методом бутстрепа (%), используя 500 реплик.

Новые нуклеотидные последовательности камчатских образцов водорослей зарегистрировали в базе данных NCBI с присвоением следующих порядковых номеров: KX108855 (*R. constricta* морфотип "constricta"), KX108856 (*R. constricta* морфотип "prasiola"), KX108857 (*P. delicata*), KX108858 (*Rosenvingiella* sp.).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Морфология изученных видов

В природной популяции на о-ве Старичков доля *Rosenvingiella constricta* морфотипа "constricta" достигала 98.6%. Остальные 1.4% растений в этой популяции были *R. constricta* морфотипа "prasiola" (рис. 1А–В). Растения морфотипа "constricta" представляли собой нити длиной 1–2 (3) мм с многочисленными (4–7) узкими перетяжками на каждой (рис. 1З–И). Однослойные в самой нижней части нити, постепенно расширяясь к верхушке, становились многорядными. Растения росли пучками и прикреплялись к субстрату вытянутой инициальной клеткой. Капюшончатые пластины морфотипа "prasiola" длиной до 1.2 мм и шириной 400–800 мкм в самой широкой части с маленьким стебельком или без него всегда росли поодиночке (рис. 1А–В). Все собранные растения обоих морфотипов были стерильными, хотя у некоторых из них были обтрепаны верхушки, очевидно, происходило формирование и высывание автоспор.

В лаборатории морфотипы были разделены и помещены в стерильную морскую среду для культивирования. Через 2 нед. капюшончатые пластины морфотипа "prasiola" начали распадаться на отдельные одиночные автоспоры (рис. 1Г), а нити морфотипа "constricta" – на пакеты из 2–6 (8) автоспор (рис. 1К–Л). Все автоспоры морфотипа "prasiola" имели разные размеры и форму, но при этом прорастали однообразно. У проростков удлиненная инициальная клетка была одета в волнистый чехол (рис. 1Д–Е). Через 1.5–2 мес. после выхода автоспор из материнских пластин проростки сформировали нитчатые растения длиной 1.0–1.5 мм (рис. 1Ж), а затем перестали расти. У дочерних растений отсутствовали характерные узкие перетяжки, однако на нитях имелись незначительные перепады толщины, приблизительно равноудаленные друг от друга и напоминающие перетяжки (рис. 1Ж). У морфотипа "constricta" пакеты из автоспор прорастали в узкие нитчатые растения длиной 1.0–1.5 мм с перетяжками (рис. 1М). Другой изученный нами камчатский вид *Rosenvingiella* sp. (рис. 2А) по морфологии был сходен с *R. constricta*, но отличался от неё более длинным нитчатым слоевищем (в длину до 6–7 мм) и отсутствием перетяжек. Перетяжки развивались менее чем у 1% растений и не более одной на каждой нити (рис. 2А–Б). Камчатская популяция *Prasiola delicata* была представлена узкими однослойными лентообразными пластинами с обтрепан-

ной верхушкой длиной до 5–6 мм, прикрепляющимися к субстрату базальной клеткой (рис. 2В).

Молекулярная идентификация

Анализ гена *rbcL* растений каждого морфотипа *R. constricta* и дочерних талломов, полученных от автоспор в лабораторных условиях, показал, что у капюшончатых растений *R. constricta* и растений с многорядными нитями с перетяжками совпадение нуклеотидных последовательностей составляло 100%, т.е. они принадлежат к одному биологическому виду (рис. 3). Камчатские образцы обоих морфотипов попали в группу, образуемую растениями *R. constricta* из Новой Зеландии (HQ174315) и Канады (AF189067) и водорослью *Prasiola* sp. из Англии (AY694197). Сходство нуклеотидных последовательностей камчатских образцов *R. constricta* с указанными образцами составило соответственно 99.4% (HQ174315) и 99.6% (AF189067, AY694197).

Два вида прازیоловых водорослей отмечены для флоры Камчатки впервые (рис. 2, 3). Так, на о-ве Старичков была найдена *P. delicata* (рис. 2В), а на кекуре в горле Авачинской губы – *Rosenvingiella* sp. (рис. 2А–Б). При определении видовой принадлежности камчатской *P. delicata* мы основывались на том, что её сходство по *rbcL* с популяцией этого вида из Ванкувера составило 100%. Вид *Rosenvingiella* sp. генетически отличается от всех известных представителей этого рода (различие по *rbcL* 93.4–96.7%) и потенциально может оказаться новым. Его сходство с видом *R. constricta* из того же местообитания на Камчатке составило 93.5%. Наибольшее сходство по *rbcL* (96.7%) он имеет с *Rosenvingiella australis* Heesch et Nelson из Новой Зеландии и *R. tasmanica* Moniz, Rindi et Guiry из Тасмании.

ОБСУЖДЕНИЕ

Одна из важных таксономических проблем в порядке Prasiolales – ответ на вопрос, является род *Rosenvingiella* стадией в развитии или формой существования *Prasiola*. Анализ *rbcL* разных представителей этих родов показал, что они попадают в две разнесенные друг от друга группы видов (Rindi et al., 2004; Moniz et al., 2012a), т.е. являются разными родами. В ходе нашего исследования было установлено, что один вид рода *Rosenvingiella* – *R. constricta*, может иметь уникальную капюшончатую морфологию, нетипичную для этого рода и характерную для рода *Prasiola*. Так, на побережье Камчатки мы нашли популяцию *R. constricta*, состоящую из растений двух морфотипов, причем в природе морфотип "constricta" превалировал над морфотипом "prasiola". Неизвестно, что именно оказывает влияние на их развитие, так как растения произрастали в одной популяции в одинаковых условиях. При лабораторном культивировании все автоспоры, появившиеся от капюшончатых растений и многорядных нитей с перетяжками, развивались в одинаковые нитчатые талломы. Анализ показал, что сходство расте-

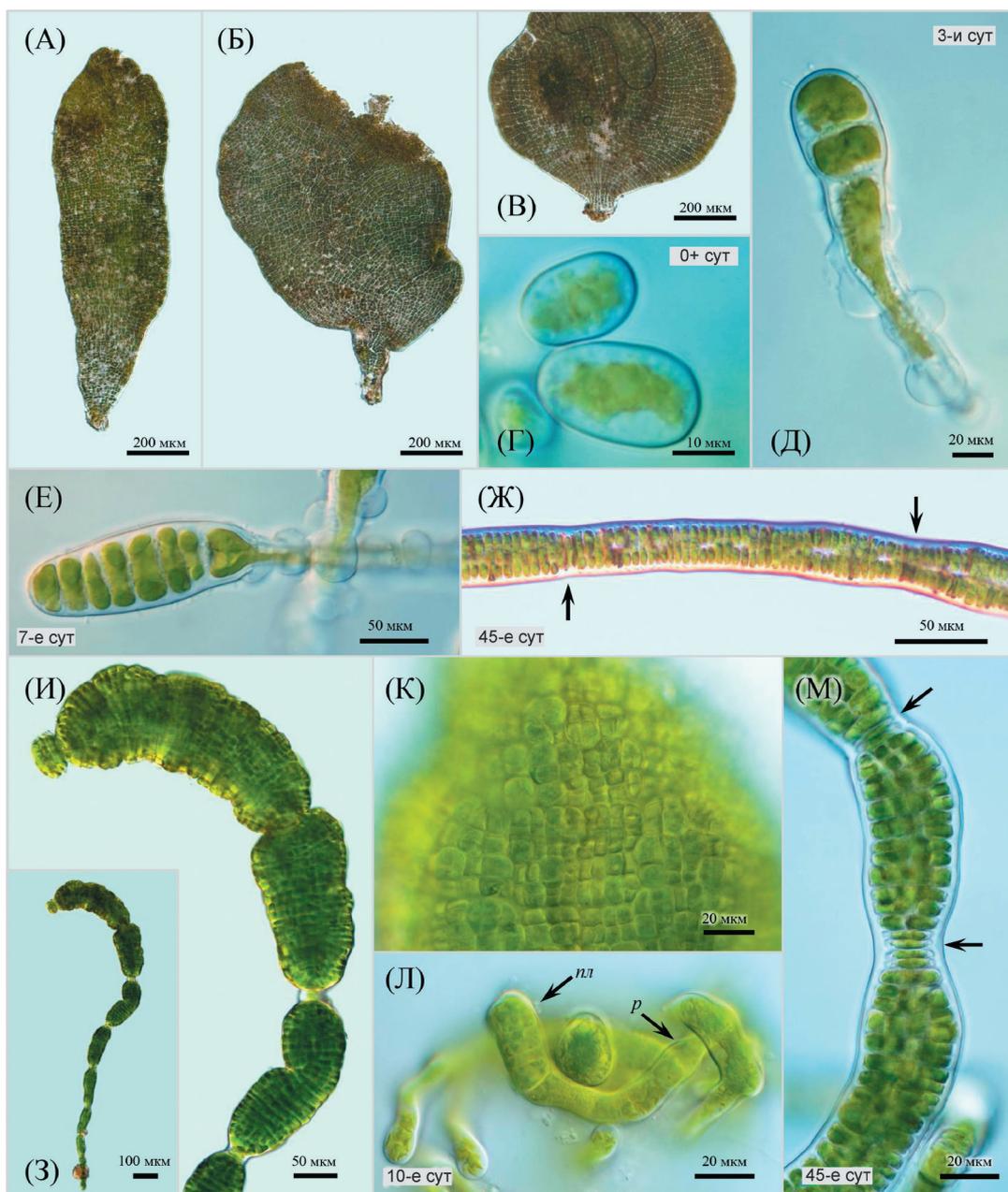


Рис. 1. Морфология изученных образцов *Rosenvingiella constricta* и их автоспор. А–Ж – *R. constricta* морфотип "prasiola": А–В – три капюшончатых растения из одной выборки, различающихся формой и размерами пластины; Г – автоспоры растений выпускались и прорастали только поодиночке; Д–Е – развитие проростков из автоспор на 3-и и 7-е сут после прикрепления к субстрату; Ж – фрагмент пластины, появившейся из автоспоры, на 45-е сут развития, на некоторых участках видны едва заметные перетяжки (показаны стрелками). З–М – *R. constricta* морфотип "constricta": З–И – взрослое растение и увеличенный фрагмент нити с характерными перетяжками; К – верхушечная часть растения с пакетами автоспор под общей кутикулой; Л – развитие проростков из автоспор на 10-е сут после прикрепления к субстрату, стрелками и условными обозначениями показаны ризондальный вырост (*p*) и нарастающая нить (*nl*); М – фрагмент нити, появившейся из автоспоры, на 45-е сут развития, перетяжки показаны стрелками.

ний обоих морфотипов по гену *rbcL* составляет 100%. Таким образом, диагнозы рода *Rosenvingiella* и вида *R. constricta* следует расширить, поскольку в редких случаях представителям *Rosenvingiella* действительно свойственна морфология *Prasiola*.

Камчатская популяция *R. constricta* генетически совпадает с популяциями этого вида из Новой Зеландии и Канады на 99.4–99.6%. Учитывая, что все образцы были

собраны на разных континентах и в разных полушариях, различие (0.4–0.6%) является незначительным и указывает на то, что это удаленные популяции одного биологического вида. Примечательно, что канадская морская популяция *R. constricta* (AF189067) имеет 100% сходства по гену *rbcL* с *Prasiola* sp. из Англии (AY694197), хотя последний вид был собран с поверхности бетонной стены в центре г. Манчестер на расстоянии 60 км от моря

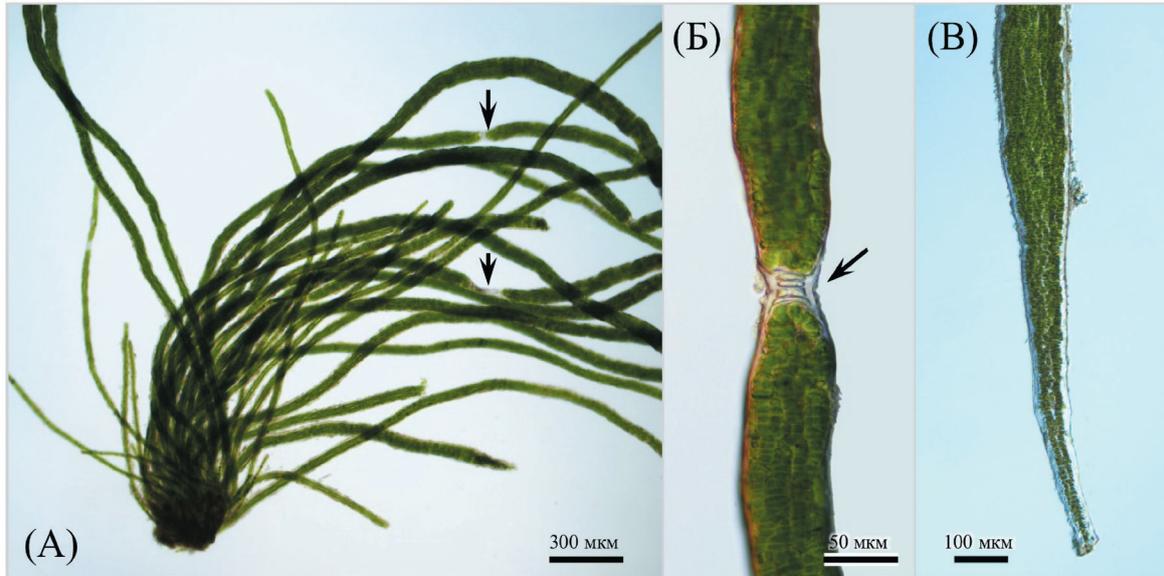


Рис. 2. Морфология изученных растений *Rosenvingiella* sp. и *Prasiola delicata*. А – пучок растений *Rosenvingiella* sp., стрелками показаны два растения с перетяжками; Б – увеличенный фрагмент нити *Rosenvingiella* sp. с перетяжкой (показана стрелкой); В – нижняя часть узкой лентообразной пластины *P. delicata*.

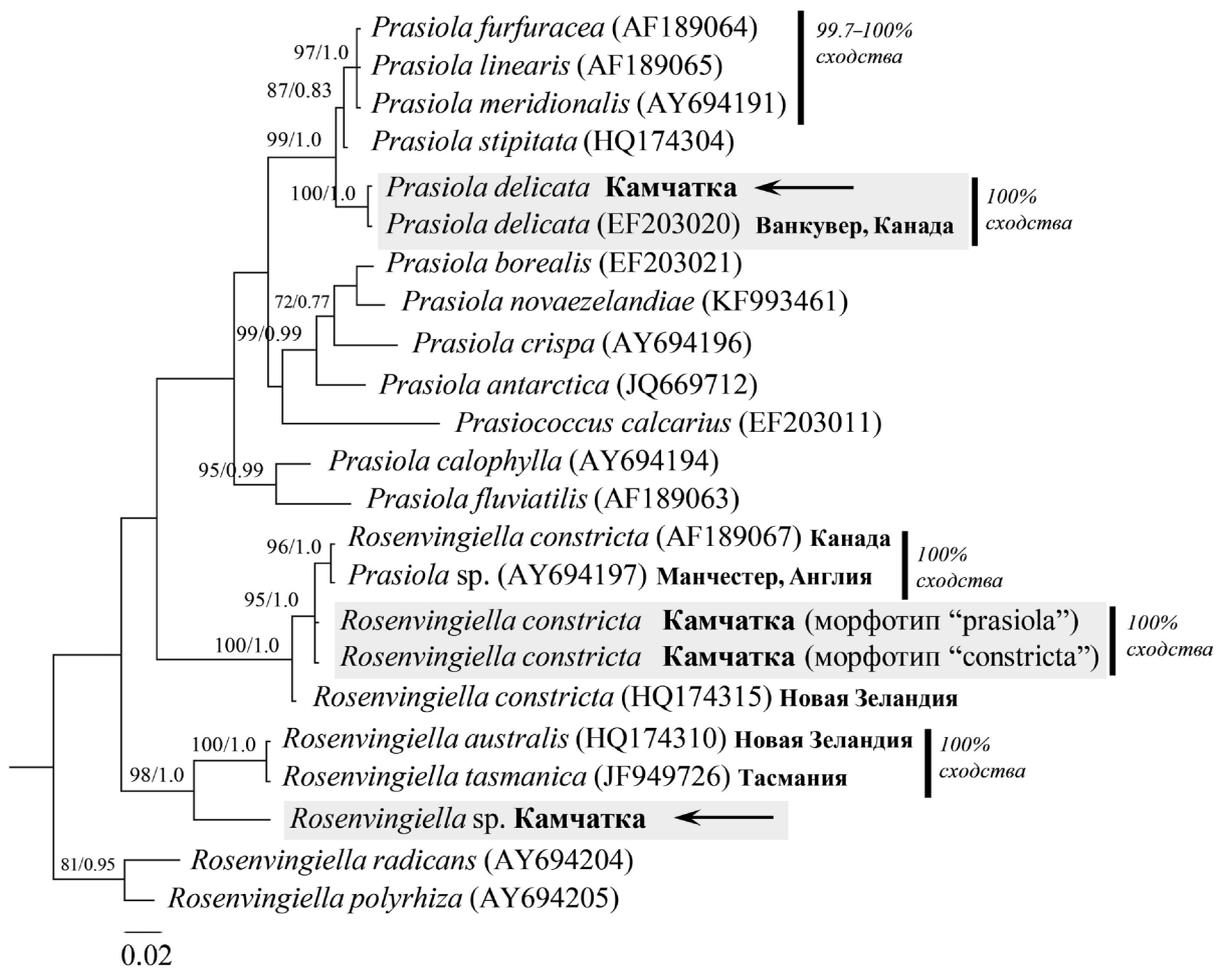


Рис. 3. Молекулярно-филогенетическое древо по *rbcL* для видов *Rosenvingiella* и *Prasiola* (аутгруппа – *Kormmannia leptoderma*). Значения напротив ветвей древа – статистический бутстреп/апостериорная вероятность сходства. Выделены исследованные нами образцы, остальные нуклеотидные последовательности взяты из базы данных NCBI.

(по морфологии это длинные однослойные нити шириной 10–18 мкм без ризоидов и многорядных частей таллома) и не способен расти в морской воде (Rindi et al., 2004). На филогенетическом древе (Rindi et al., 2004) данный вид, определенный как *Prasiola* sp., сгруппировался вместе с канадской *R. constricta* (AF189067) в отдельную пограничную кладу, поместившуюся самой последней в группе видов *Prasiola*. Однако на другом филогенетическом древе (Kim et al., 2015), а также на нашем древе эта клада поместилась в группе видов *Rosenvingiella*. На филогенетическом древе (Moniz et al., 2012a) этот почвенный вид из Англии назван *Rosenvingiella* sp. без каких-либо объяснений изменения его родовой принадлежности, хотя в базе данных NCBI он по-прежнему приведен как *Prasiola* sp. (AY694197) и его морфология соответствует диагнозу рода *Prasiola*. Сходство данного почвенного вида по *rbcL* с морским видом *R. constricta*, составляющее 100%, является примером того, как морфологические и экологические признаки видов противоречат результатам генетического анализа. Это также ещё одно косвенное подтверждение того, что представителям *Rosenvingiella* свойственна морфология *Prasiola*.

В группе прازیоловых водорослей остается много нерешенных таксономических проблем. Например, недавно проведенный филогенетический анализ по гену *rbcL* показал, что в центре группы, образуемой видами *Prasiola*, находится вид *Prasiococcus calcarius* (Petersen) Vischer, являющийся типовым для рода *Prasiococcus* Vischer (Heesch et al., 2012; Moniz et al., 2012a; Kim et al., 2015). При возникновении подобных ситуаций в других таксономических группах водорослей такие роды обычно разделяют на несколько отдельных родов, но в случае с *Prasiola* этого не сделано. Другой проблемой является наличие видов, на 100% совпадающих по генам, используемым в качестве ДНК-маркёров, но различающихся по морфологии и экологии. Так, у *R. australis* из Новой Зеландии (HQ174310; Heesch et al., 2012) и *R. tasmanica* из Тасмании (JF949726; Moniz et al., 2012a) сходство нуклеотидных последовательностей по *rbcL* достигает 100%, хотя это до сих пор не обсуждалось и их продолжают определять как разные виды (Guiry, Guiry, 2016). Стоит отметить, что при описании данных видов особое внимание уделялось анализу ДНК и в случае с *R. tasmanica* межвидовая разница по *rbcL* указана в латинском диагнозе в качестве таксономического признака вида (Moniz et al., 2012a). Возможно, видовое название *R. australis* следует свести в синоним *R. tasmanica*, поскольку последний вид был описан раньше и имеет приоритет, или же указывать различие по определенным генам в диагнозах видов лишено всякого смысла.

Аналогичная ситуация сложилась и с образцами, определенными как *Prasiola stipitata* (HQ174304), *P. linearis* (AF189065), *P. meridionalis* (AY694191) и *P. furfuracea* (AF189064), так как их совпадение по *rbcL* составляет 99.7–100%. Это было отмечено и раньше (Rindi et al., 2007; Heesch et al., 2012), однако авторы

не объединили данные виды в один вид с приоритетным именем *P. furfuracea*, поскольку, по их мнению, виды демонстрируют разную морфологию (Rindi et al., 2007). При этом ранее авторы утверждали, что морфология видов Prasiolales обладает высокой фенотипической пластичностью и во многом зависит от факторов окружающей среды (Rindi, 2007).

В современной альгологии сформировалась тенденция определять видовую и родовую принадлежность таксонов преимущественно по ДНК, а не по морфологии, что наглядно представлено в публикациях по разным отделам водорослей (Pröschold et al., 2001, 2005; Hayden et al., 2003; Cho et al., 2006; Lane et al., 2006; Pröschold, Silva, 2007; Boo et al., 2011; Sutherland et al., 2011; Hind et al., 2014; Muangmai et al., 2014). Прازیоловые водоросли не могут быть исключением. Если в этой таксономической группе регистрировали одинаковые по морфологии, но генетически различающиеся "скрытые" виды (Moniz et al., 2012b), т.е. наглядно демонстрировали преимущество генетического метода над морфологическим, то образцы, совпадавшие по генам, используемым в качестве ДНК-маркёров, следовало относить к одному виду независимо от морфологических различий, которые, как известно, могут возникать у разных фенотипов.

Анализ по гену *tufA* также показал, что совпадение последовательностей у видов *P. meridionalis* и *P. stipitata* составляет 100%, но и в этом случае авторы не свели их в один вид, поскольку, по их мнению, генетическое совпадение между данными видами является результатом трансарктического излучения и связано с климатической историей Северной Атлантики и северной части Тихого океана в недавнее эволюционное время (Moniz et al., 2014). По нашему мнению, говорить о влиянии дрейфа континентов и морских трансгрессий на распространение видов можно по отношению к макроводорослям, а в случае с чрезвычайно устойчивыми мелкими водорослями, какими являются прازیоловые, логичнее предполагать их интродукцию в удаленные местообитания через носителей. Представители порядка Prasiolales чрезвычайно устойчивы к иссушению, например, наши исследования показали, что некоторые виды остаются живыми в течение трех–четырёх лет при потере практически 100% внутриклеточной жидкости (Т. Клочкова и др., 2015).

Ранее для флоры российских дальневосточных морей указывали четыре представителя обсуждаемых родов: *Prasiola borealis* Reed, *P. crispa* (Lightfoot) Kützinger, *R. constricta* и *R. polyrhiza* (Rosenvinge) Silva (Виноградова, 1979); из них виды *P. borealis* и *R. constricta* зарегистрированы в прикамчатских водах (Н. Клочкова и др., 2009). Нами обнаружены новые для флоры Камчатки виды *Rosenvingiella* sp. и *Prasiola delicata*. В настоящее время в роде *Rosenvingiella* насчитывают шесть видов (Guiry, Guiry, 2016); *rbcL* пяти из них был секвенирован; *rbcL* последнего вида – *Rosenvingiella simplex* Vinogradova, собранного с Южно-Шетландских островов на о-ве Кинг-Джорджа (Виноградова, 1984), пока

не изучен. Морфологически образцы *R. simplex* наиболее сходны с *R. constricta*, как и наши образцы *Rosenvingiella* sp. Однако сходство *R. constricta* и образцов *Rosenvingiella* sp. по *rbcL* составляет всего 93.5%. Это является примером того, как виды, сходные по морфологии и произрастающие в одном местообитании, являются разными в генетическом отношении. Морфология *Rosenvingiella* sp. не вполне соответствует описанию *R. simplex*, а места их обитания находятся на удалении более 12 тыс. км, и пока не будет изучен *rbcL* растений *R. simplex* из типового местообитания, мы не можем описать камчатский вид как новый.

Вид *P. delicata* отмечен Возжинской (1964) на Сахалине, однако по мнению Виноградовой (1979) примечания, сделанные автором, заставляют усомниться в правильности его определения. Мы впервые указываем этот вид для флоры Камчатки на основании 100% сходства по *rbcL* с его популяцией из Ванкувера, при этом морфология камчатских и канадских растений различается. В оригинальном описании *P. delicata* приводятся рисунки широких продолговатых или сердцевидных пластин на стебельке (Setchell, Gardner, 1920), а канадская популяция из Ванкувера состояла из округлых или сердцевидных пластин (Rindi et al., 2007).

В современной альгологии молекулярно-филогенетический анализ, как правило, используют для нахождения одинаковых по морфологии, но генетически различающихся "скрытых" видов. Наше исследование показало, что он может успешно применяться для определения видовой принадлежности разных морфотипов одного биологического вида.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Виноградова К.Л. Определитель водорослей дальневосточных морей СССР. Зеленые водоросли. Л.: Наука. 1979. 145 с.
- Виноградова К.Л. К флоре морских Chlorophyta Антарктиды // Новости системат. низш. раст. 1984. Т. 20. С. 10–18.
- Возжинская В.Б. Макрофиты морских побережий Сахалина // Тр. ИО АН СССР. 1964. Т. 49. С. 330–440.
- Клочкова Н.Г., Королева Т.Н., Кусиди А.Э. Атлас водорослей-макрофитов прикамчатских вод. Петропавловск-Камчатский: Камчатпресс, КамчатНИРО. 2009. Т. 1. 216 с.
- Клочкова Т.А., Клочкова Н.Г., Очеретяна С.О., Ким Г.Х. Влияние долговременного обезвоживания на морские зеленые водоросли *Prasiola delicata* и *Rosenvingiella constricta* (Chlorophyta, Prasiolales) // Вестн. Камчат. гос. техн. ун-та. 2015. Т. 34. С. 33–45.
- Becker E.W. Physiological studies on Antarctic *Prasiola crispa* and *Nostoc commune* at low temperatures // Polar Biol. 1982. Vol. 1. P. 99–104.
- Boo G.H., Lindstrom S.C., Klochkova N.G. et al. Taxonomy and biogeography of *Agarum* and *Thalassiophyllum* (Laminariales, Phaeophyceae) based on sequences of nuclear, mitochondrial, and plastid markers // Taxon. 2011. Vol. 60. P. 831–840.
- Børgesen F. Marine algae. Part II // Botany of the Faerøes, based upon Danish investigations. Copenhagen: Carlsbergfondet. 1902. P. 339–532.
- Bravo L.M. A contribution to knowledge of the life history of *Prasiola meridionalis* // Phycologia. 1962. Vol. 2. P. 17–23.
- Bravo L.M. Studies on the life history of *Prasiola meridionalis* // Phycologia. 1965. Vol. 4. P. 177–194.
- Burrows E.M. Seaweeds of the British Isles. Vol. 2: Chlorophyta. London: Natural History Museum Publications. 1991. P. i–xi, 1–238. 60 figs. 9 pls.
- Cho G.Y., Klochkova N.G., Krupnova T.N., Boo S.M. The reclassification of *Lessonia laminarioides* (Laminariales, Phaeophyceae): *Pseudolessonia* gen. nov. // J. Phycol. 2006. Vol. 42. P. 1289–1299.
- Edwards P. Evidence for a relationship between the genera *Rosenvingiella* and *Prasiola* (Chlorophyta) // Br. Phycol. J. 1975. Vol. 10. P. 291–297.
- Friedmann I. Structure, life-history, and sex determination of *Prasiola stipitata* Suhr. // Ann. Bot. New Ser. 1959. Vol. 23. P. 571–594.
- Guiry M.D., Guiry G.M. AlgaeBase. World-wide electronic publication. National University of Ireland. Galway. 2016. <http://www.algaebase.org>. Дата обращения: 10.04.2016.
- Hartmann A., Holzinger A., Ganzer A., Karsten U. Prasiolin, a new UV-sunscreen compound in the terrestrial green macroalga *Prasiola calophylla* (Carmichael ex Greville) Kützinger (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) // Planta. 2016. Vol. 243. P. 161–169.
- Hayden H.S., Blomster J., Maggs C.A. et al. Linnaeus was right all along: *Ulva* and *Enteromorpha* are not distinct genera // Eur. J. Phycol. 2003. Vol. 38. P. 277–294.
- Heesch S., Sutherland J.E., Nelson W.A. Marine Prasiolales (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) from New Zealand and the Balleny Islands, with descriptions of *Prasiola novaehollandiae* sp. nov. and *Rosenvingiella australis* sp. nov. // Phycologia. 2012. Vol. 51. P. 217–227.
- Hind K.R., Gabrielson P.W., Lindstrom S.C., Martone P.T. Misleading morphologies and the importance of sequencing type specimens for resolving coralline taxonomy (Corallinales, Rhodophyta): *Pachyarthon cretaceum* is *Corallina officinalis* // J. Phycol. 2014. Vol. 50. P. 760–764.
- Holzinger A., Karsten U. Desiccation stress and tolerance in green algae: consequences for ultrastructure, physiological and molecular mechanisms // Front. Plant Sci. 2013. Vol. 4. P. 327. doi:10.3389/fpls.2013.00327
- Hoyer K., Karsten U., Sawall T., Wiencke C. Photoprotective substances in Antarctic macroalgae and their variation with respect to depth distribution, different tissues and developmental stages // Mar. Ecol. Progr. Ser. 2001. Vol. 211. P. 117–129.
- Hunt J.H., Denny M.W. Desiccation protection and disruption: a trade-off for an intertidal marine alga // J. Phycol. 2008. Vol. 44. P. 1164–1170.
- Jackson A.E., Seppelt R.D. The accumulation of proline in *Prasiola crispa* during winter in Antarctica // Physiol. Plant. 1995. Vol. 94. P. 25–30.
- Karsten U., Friedl T., Schumann R. et al. Mycosporine-like amino acids and phylogenies in green algae: *Prasiola* and its relatives from the Trebouxiophyceae (Chlorophyta) // J. Phycol. 2005. Vol. 41. P. 557–566.
- Kim M.S., Jun M.-S., Kim C.A. et al. Morphology and phylogenetic position of a freshwater *Prasiola* species (Prasiolales, Chlorophyta) in Korea // Algae. 2015. Vol. 30. P. 197–205.
- Kornmann P., Sahling P.-H. Prasiolales (Chlorophyta) von Helgoland // Helgol. Wiss. Meeresunters. 1974. Vol. 26. P. 99–133.
- Kosugi M., Katashima Y., Aikawa S. et al. Comparative study on the photosynthetic properties of *Prasiola* (Chlorophyceae) and *Nostoc* (Cyanophyceae) from Antarctic and non-Antarctic sites // J. Phycol. 2010. Vol. 46. P. 466–476.

- Lane C.E., Mayes C., Druehl L.D., Saunders G.W. A multi-gene molecular investigation of the kelp (Laminariales, Phaeophyceae) supports substantial taxonomic re-organization // J. Phycol. 2006. Vol. 42. P. 493–512.
- Lud D., Buma A.G.J., van den Poll W. et al. DNA damage and photosynthetic performance in the Antarctic terrestrial alga *Prasiola crista* ssp. *antarctica* (Chlorophyta) under manipulated UV-B radiation // J. Phycol. 2001. Vol. 37. P. 459–467.
- Moniz M.B.J., Guiry M.D., Rindi F. *tufA* phylogeny and species boundaries in the green algal order Prasiolales (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) // Phycologia. 2014. Vol. 53. P. 396–406.
- Moniz M.B.J., Rindi F., Guiry M.D. Phylogeny and taxonomy of Prasiolales (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) from Tasmania, including *Rosenvingiella tasmanica* sp. nov. // Phycologia. 2012a. Vol. 51. P. 86–97.
- Moniz M.B.J., Rindi F., Novis P.M. et al. Molecular phylogeny of Antarctic *Prasiola* (Prasiolales, Trebouxiophyceae) reveals extensive cryptic diversity // J. Phycol. 2012b. Vol. 48. P. 940–955.
- Muangmai N., West J.A., Zuccarello G.C. Evolution of four Southern Hemisphere *Bostrychia* (Rhodomelaceae, Rhodophyta) species: phylogeny, species delimitation and divergence times // Phycologia. 2014. Vol. 53. P. 593–601.
- National Center for Biotechnology Information. 2016. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>. Дата обращения: 10.05.2016.
- Naw M.W.D., Hara Y. Morphology and molecular phylogeny of *Prasiola* sp. (Prasiolales, Chlorophyta) from Myanmar // Phycol. Res. 2002. Vol. 50. P. 175–182.
- Pröschold T., Harris E.H., Coleman A.W. Portrait of a species: *Chlamydomonas reinhardtii* // Genetics. 2005. Vol. 170. P. 1601–1610.
- Pröschold T., Marin B., Schlösser U.G., Melkonian M. Molecular phylogeny and taxonomic revision of *Chlamydomonas* (Chlorophyta). I. Emendation of *Chlamydomonas* Ehrenberg and *Chloromonas* Gobi, and description of *Oogamochlamys* gen. nov. and *Lobochlamys* gen. nov. // Protist. 2001. Vol. 152. P. 265–300.
- Pröschold T., Silva P.C. Proposal to change the listed type of *Chlamydomonas* Ehrenb., nom. cons. (Chlorophyta) // Taxon. 2007. Vol. 56. P. 595–596.
- Rindi F. Prasiolales // Green seaweeds of Britain and Ireland. Dunmurry, Northern Ireland: British Phycological Soc. 2007. P. 13–31.
- Rindi F., McIvor L., Guiry M.D. The Prasiolales (Chlorophyta) of Atlantic Europe: an assessment based on morphological, molecular, and ecological data, including the characterization of *Rosenvingiella radicans* (Kützinger) comb. nov. // J. Phycol. 2004. Vol. 40. P. 977–997.
- Rindi F., McIvor L., Sherwood A.R. Molecular phylogeny of the green algal order Prasiolales (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) // J. Phycol. 2007. Vol. 43. P. 811–822.
- Ronquist F., Huelsenbeck J.P. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees // Bioinformatics. 2001. Vol. 17. P. 754–755.
- Setchell W.A., Gardner N.L. The marine algae of the Pacific coast of North America. Part II. Chlorophyceae // Univ. Calif. Publ. Bot. 1920. Vol. 8. P. 139–374. Pls. 9–33.
- Stamatakis A. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies // Bioinformatics. 2014. Vol. 30. P. 1312–1313.
- Sutherland J.E., Lindstrom S.C., Nelson W.A. et al. A new look at an ancient order: generic revision of the Bangiales (Rhodophyta) // J. Phycol. 2011. Vol. 47. P. 1131–1151.