

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ  
ІНСТИТУТ БОТАНІКИ ім. М.Г. ХОЛОДНОГО**

**Михайлюк Тетяна Іванівна**



УДК 582.26:582.232

**ВОДОРСТІ ТА ЦΙΑНОБАКТЕРІЇ БІОЛОГІЧНИХ  
ГРУНТОВИХ КІРОЧОК: РІЗНОМАНІТТЯ, ФІЛОГЕНІЯ,  
ТАКСОНОМІЯ, ЕКОЛОГІЯ, ПОШИРЕННЯ**

**03.00.05 – Ботаніка**

**АВТОРЕФЕРАТ**

**дисертації на здобуття наукового ступеня**

**доктора біологічних наук**

**Київ – 2021**

**Дисертацією є сукупність наукових статей за науковою тематикою**  
Робота виконана у відділі фікології, ліхенології та бріології  
Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України

**Науковий консультант:** доктор біологічних наук, старший науковий співробітник  
**ВИНОГРАДОВА Оксана Миколаївна,**  
Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України,  
заступник директора з наукової роботи.

**Офіційні опоненти:** доктор біологічних наук, професор  
**ХОДОСОВЦЕВ Олександр Євгенович,**  
Херсонський державний університет,  
професор кафедри ботаніки;

доктор біологічних наук, професор  
**ЛЕОНТЬЄВ Дмитро Вікторович,**  
Харківський національний педагогічний  
університет імені Г.С. Сковороди,  
завідувач кафедри ботаніки;

доктор біологічних наук, професор  
**ТКАЧЕНКО Федір Петрович,**  
Одеський національний університет імені  
І.І. Мечникова,  
завідувач кафедри ботаніки.

Захист відбудеться «06» травня 2021 р. о 10-00 на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.211.01 у Інституті ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України за адресою: 01024, м. Київ, вул. Терещенківська, 2

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України за адресою: 01025, м. Київ, вул. Велика Житомирська, 28, та на сайті: <https://www.botany.kiev.ua>

Автореферат розісланий «06» квітня 2021 р.

Вчений секретар  
спеціалізованої вченої ради, к.б.н.



С.О. Нипорко

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Обґрунтування вибору теми дослідження.** Біологічні ґрунтові кірочки (біокірочки) – комплексні мікроекосистеми, що розвиваються на поверхні ґрунту, досягаючи товщини від кількох міліметрів до кількох сантиметрів. До складу біокірочок входять різноманітні організми, включаючи бактерії, ціанобактерії, водорості, мікроскопічні гриби, лишайники, мохи, протисти, безхребетні. Матрикс біокірочки формують нитчасті ціанобактерії родів *Microcoleus*, *Scytonema*, *Leptolyngbya*, *Phormidium*, *Nostoc*, *Calothrix* та ін., евкаріотичні нитчасті водорості (*Klebsormidium*, *Zygonium*, *Prasiola*), протонема та ризоїди мохів. Інші організми (бактерії, мікроскопічні гриби, одноклітинні та пакет-формуючі водорості) заселяють утворену ретикулярну структуру, заповнюючи порожнини та забезпечуючи прихистком і живленням різноманітних представників *Protista* та безхребетних тварин.

Ґрунтові біокірочки є початковою (піонерною) стадією формування ґрунтів. Вони стабілізують поверхню ґрунту через зв'язування разом піщаних зерен та часточок, покращують вологоутримуючу здатність ґрунтів. Через накопичення та перетворення органічної речовини, покращують фізико-хімічні якості ґрунтів та сприяють підвищенню їх родючості (Belnap & Lange, 2001). Дають “помешкання” та “харч” для гетеротрофних мікроорганізмів, таким чином грають важливу екологічну роль у первинній продукції та кругообігу речовин у ґрунті; закріплюють “рухливі” ґрунти та піщані дюни, сприяючи їхньому заростанню (Weber et al., 2016).

Ґрунтові біокірочки поширені у всіх кліматичних зонах Землі в умовах, де ріст вищих рослин лімітований несприятливими факторами середовища: в аридних та напіваридних екосистемах, холодних регіонах – полярних та альпійських високогір'ях, екстремальних мікромісцезростаннях помірної зони – ксерофітних степах, лісових стежках, стінах яруг, прибережних піщаних дюнах та ін., а також порушених місцезростаннях – місцях пожеж, шахтних відвалах тощо. Загалом біокірочки вкривають близько 12% земної поверхні (Rodriguez-Caballero et al., 2018). Особливо вагоме значення вони мають в екосистемах з аридним кліматом, вкриваючи до 85-95% поверхні незадернованих пісків пустель Азії та Африки (Lange et al., 1992; Büdel et al., 2009).

Незважаючи на активні дослідження біокірочок, низка питань все ще чекає свого вирішення. Зокрема, недостатньо відомостей по біогеографії кірочок, залежності їхнього видового складу від екологічних і географічних факторів. Думка про те, що біокірочки формує обмежена кількість організмів за провідної ролі космополітної ціанобактерії *Microcoleus vaginatus*, не пройшла випробування часом. Дослідження засвідчують значно різноманітніший видовий склад водоростей та ціанобактерій ґрунтових біокірочок та суттєву залежність їхньої таксономічної структури від низки факторів середовища. Багато територій та екоотопів (Африка, Північна та Південна Америка, Австралія, полярні та гірські регіони, приморські дюни) все ще досліджені

недостатньо. Найкраще вивчені біокірочки аридних областей, тоді як відомостей стосовно біокірочок помірних зон суттєво менше. Майже всі відомості про видовий склад водоростей та ціанобактерій біокірочок отримані на основі морфологічного вивчення; молекулярно-філогенетичні методи оцінки їх біорізноманіття увійшли у практику відносно недавно. Все ще існують значні прогалини у таксономії водоростей та ціанобактерій біокірочок.

Отже, флористико-систематичне, еколого-географічне та молекулярно-філогенетичне вивчення водоростей і ціанобактерій, як основного структурно-функціонального компонента біокірочок, є актуальним як з фундаментальної, так і з прикладної точки зору.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота виконувалася відповідно до наукової тематики відділів ліхенології та бріології, а також фікології, ліхенології та бріології Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, зокрема, держбюджетних тем «Таксономічне різноманіття та флорогенетичні зв'язки лишайників, мохоподібних та наземних водоростей гранітних відслонень Українського кристалічного щита» (№ держреєстрації 0102U006747), «Лишайники, мохоподібні та наземні водорості лісових екосистем: різноманіття, екологія, таксономія, молекулярна філогенія» (№ держреєстрації 0113U000003), «Продромус альгофлори, бріофлори та ліхенобіоти України» (№ держреєстрації 0118U003009), а також у рамках міжнародних проєктів “Molecular phylogenetic and morphological revision of terrestrial streptophycean green algae” (2007-2009, INTAS Fellowship for Young Scientists, Ref. Nr 06-1000014-6216), “Morphological characters of the cosmopolitan green algal genus *Klebsormidium* are relevant as adaptative traits for survival in alpine soil crusts” (2011, DAAD, Section: 322, Codenumber: A/11/05271), “Biological soil crusts from sand dunes of maritime ecosystems” (2012–2015, 2016, 2019, Georg Forster Fellowship for Experienced Researchers and Renewed research stays, Alexander von Humboldt Foundation), стипендій університетів м. Росток (Німеччина) та м. Інсбрук (Австрія).

**Мета і завдання дослідження.** Мета роботи: дослідити видове різноманіття водоростей та ціанобактерій біологічних ґрунтових кірочок різноманітних за кліматичними і екологічними умовами регіонів, використовуючи інтегративний підхід; виявити особливості екології та поширення водоростей і ціанобактерій у біокірочках, вивчити філогенію та провести таксономічні ревізії окремих таксонів, приділяючи особливу увагу представникам *Klebsormidiophyceae* як домінуючим організмам, що формують біокірочки в умовах помірної зони.

Для досягнення поставленої мети були визначені такі завдання:

1. Дослідити видове різноманіття водоростей та ціанобактерій біокірочок недостатньо вивчених та різноманітних за кліматичними і екологічними умовами регіонів: прибережних піщаних дюн, лісових екосистем та гіпергалінних відвалів Європи, пустель, напівпустель та лісів Південної Америки, екосистем полярних регіонів.

2. Встановити специфіку таксономічної структури альгоугруповань біокірочок, що розвиваються у різних екотопах в умовах помірною, субтропічного, тропічного та полярного клімату.

3. Виявити особливості видового складу водоростей та ціанобактерій досліджених біокірочок в залежності від впливу окремих екологічних та кліматичних факторів.

4. Вивчити молекулярно-філогенетичні особливості окремих штамів водоростей та ціанобактерій біокірочок і уточнити ідентифікацію певних видів (криптичні таксони) на основі інтегративного підходу.

5. Оцінити закономірності поширення водоростей та ціанобактерій у біокірочках різних географічних регіонів і екосистем.

6. Використовуючи власні та колекційні штами, провести таксономічну ревізію представників класу Klebsormidiophyceae (Streptophyta) як домінуючих організмів біокірочок помірної зони.

7. Дослідити морфологічні, філогенетичні та ультратонкі особливості штамів рідкісних та недостатньо вивчених представників водоростей і ціанобактерій з метою уточнення їх систематичного положення та проведення таксономічних ревізій.

*Об'єкт дослідження* – водорості та ціанобактерії біологічних ґрунтових кірочок.

*Предмет дослідження* – різноманіття водоростей та ціанобактерій біокірочок різних за кліматичними і екологічними умовами регіонів, особливості екології та поширення, філогенія і таксономія.

*Методи дослідження* – польові, камеральні, морфологічні, методи культур, світлової мікроскопії, трансмісійної електронної мікроскопії, молекулярно-філогенетичні, порівняльно-флористичні, статистичного аналізу.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Уперше проведено комплексне дослідження водоростей та ціанобактерій ґрунтових біокірочок екологічно та географічно різних екосистем помірної зони Європи, рослинно-кліматичних зон Чилі та тундрових екосистем полярних регіонів. Виявлено особливості видового складу водоростей і ціанобактерій у біокірочках цих регіонів: переважання зелених водоростей при значній ролі ціанобактерій на балтійських та чорноморських дюнах, ціанобактерій – у приморських екосистемах Азовського моря, зелених водоростей при майже повній відсутності ціанобактерій – у лісах Німеччини, зелених ульвофіцієвих водоростей, витривалих до засолення – у штучних гіпергалінних екосистемах Німеччини, унікальних представників роду *Klebsormidium* – у напівпустелях та лісах Чилі, жовтозелених водоростей – у полярних регіонах. Вперше проведено дослідження з використанням інтегративного підходу водоростей та ціанобактерій біокірочок морських прибережних екосистем Європи (на прикладі Балтійського, Чорного та Азовського морів). Виявлено, що видовий склад водоростей і ціанобактерій біокірочок дюн визначається текстурою та хімічним складом (переважно електропровідністю, рН, вмістом карбонатів і фосфору) піску, а також кліматичними особливостями регіону. На прикладі

водоростей та ціанобактерій біокірочок балтійських дюн показано, що використання інтегративного підходу дозволяє уточнити ідентифікацію низки домінуючих та рідкісних таксонів, які в цілому склали близько 15% виявлених видів. На прикладі лісів Німеччини показано, що рівень лісового менеджменту суттєво впливає на склад водоростей біокірочок, які стають різноманітнішими, ймовірно у зв'язку з порушенням рослинного покриву через вирубки та насадження. Уперше вивчено штучні гіпергалінні екосистеми Німеччини (відвали після видобутку поташу) з використанням інтегративного підходу, що призвело до виявлення 18 нових філогенетичних ліній. Уперше проведено вивчення з використанням інтегративного підходу водоростей і ціанобактерій біокірочок чотирьох рослинно-кліматичних зон Чилі: пустель, напівпустель, сухих та вологих лісів. Доповнено відомості щодо вивчення евкаріотичних водоростей біокірочок полярних регіонів (Свальбарду та Антарктичних островів) і показано їхній багатий видовий склад.

На основі інтегративного підходу виявлено нові таксони в межах класу *Klebsormidiophyceae* (*Streptophyta*) – роди *Interfilum* та *Streptosarcina*. Окреслено загальну філогенію класу, що нині включає 5 родів та водорості як з нитчастою сланню, так і з пакетоподібною та розгалуженою. Центральну філогенетичну лінію класу розділено на 7 основних суперклад. Відкрито та охарактеризовано групу *Klebsormidium* з філогенетичної суперклади G, відзначено її переважне поширення у біокірочках Південної півкулі, що змушує переглянути уявлення про *Klebsormidium* як водорість-космополіт. Вперше доведено, що ділення клітин *Klebsormidiophyceae* відбувається за механізмом, близьким до споруючості; запропоновано схеми, що пояснюють формування таломів різної морфологічної структури в межах класу. Виявлено нову філогенетичну лінію серед стрептофітових водоростей, описану як рід *Streptofilum*, що характеризується унікальним клітинним покривом, складеним субмікроскопічними органічними лусочками своєрідної будови. Загалом, описано як нові для науки 2 роди, 18 видів і 2 різновидності водоростей і ціанобактерій, здійснено емендацію та епітипіфікацію 16 видів та запропоновано 6 нових номенклатурних комбінацій, виявлено 15 таксонів, нових для флори України.

**Практичне значення одержаних результатів.** Матеріали, одержані в результаті дослідження (стосовно філогенії і таксономії *Klebsormidiophyceae*), використані при підготовці фундаментальних зведень «Algae of Ukraine: diversity, nomenclature, taxonomy, ecology and geography» (V. 4, 2014), «Флора водоростей України» (т. 12, вип. 2, 2016) та «Atlas sinic a řas ĀR 2» (Āeské Budějovice, 2018), а також враховані у колективних монографіях «Лишайники, мохоподібні та наземні водорості гранітних каньйонів України» (2011) та «Молекулярна філогенія і сучасна таксономія наземних спорових рослин» (2013). Вони будуть враховані при складанні «Продромусу альгофлори України» (в процесі підготовки) та можуть бути використані при підготовці визначників зелених водоростей і ціанобактерій України і Західної Європи. Результати роботи наразі використовуються в учбовому процесі в університеті м. Росток

(Німеччина), а також при підготовці PhD студентів в Інституті ботаніки, при викладанні курсів «Молекулярна філогенія рослин і грибів» та «Культивування водоростей з основами біотехнології». Біля 300 особисто виділених штамів водоростей зберігаються в колекції університету м. Росток (Німеччина), 30 увійшли до колекцій SAG (Німеччина), BCCO (Чехія) та IBASU-A (Україна). Вони можуть бути використані для відбору об'єктів біотехнологічних досліджень і в учбовому процесі у вищих навчальних закладах. 240 власноруч отриманих нуклеотидних послідовностей (18S/16S рРНК та регіон ITS, *rbcL*) водоростей та ціанобактерій поповнили міжнародну базу NCBI та слугують референтними послідовностями при ідентифікації водоростей і ціанобактерій.

**Особистий внесок здобувача.** Дисертаційна робота є самостійним дослідженням автора. Обґрунтування теми дисертації, визначення напрямків і методів роботи та узагальнення даних і їхня науково-теоретична інтерпретація здійснені безпосередньо здобувачем. Польові дослідження, камеральне опрацювання матеріалу культурально-мікроскопічними та філогенетичними методами, аналіз та узагальнення даних щодо водоростей і ціанобактерій біокірочок приморських регіонів (Німеччина, Україна) виконані автором особисто або при його активній участі. При співпраці за флористико-екологічними проектами по вивченню різноманіття водоростей біокірочок лісів та гіпергалінних відвалів Німеччини, рослинно-кліматичних зон Чилі та полярних регіонів автор брав активну участь в опрацюванні матеріалу культурально-мікроскопічними методами, ідентифікації видів, аналізі філогенетичних даних, а також узагальненні матеріалів та науково-теоретичній інтерпретації результатів. При співпраці за проектами щодо таксономії представників Klebsormidiophyceae (Streptophyta), зелених та жовтозелених водоростей і ціанопротистів автором проведені культурально-мікроскопічні та філогенетичні дослідження, взято участь у підготовці матеріалу та інтерпретації результатів електронно-мікроскопічних досліджень, проведено аналіз та узагальнення даних особисто або при активній участі. У публікаціях, виданих у співавторстві, здобувач є активним членом творчого колективу, права співавторів не порушені.

**Апробація результатів дисертації.** Основні результати дисертаційної роботи були апробовані на засіданнях відділів ліхенології та бріології і фікології, ліхенології та бріології, сектору нижчих рослин і вченої ради Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, семінарах в університетах міст Росток, Геттінген (Німеччина) та Інсбрук (Австрія), а також доповідалися на численних наукових зібраннях: 9th Bonn Humboldt Award Winners' Forum (16-20 жовтня 2019 р., Бонн, Німеччина), Advances in modern phycology: VI International Conference (15-17 травня 2019 р., Київ, Україна), 17th Scientific Conference of the Phycology Section of the German Botanical Society (11-14 березня 2018 р., Берхтесгаден, Німеччина), XIV з'їзд Українського Ботанічного Товариства (25-26 квітня 2017 р., Київ, Україна), European Geosciences Union, General Assembly 2017 (23-28 квітня 2017 р., Відень, Австрія), European Geosciences Union, General Assembly 2016 (17-22 квітня 2016

р., Відень, Австрія), 15th Scientific Conference of the section of Phycology of the German Botanical Society (23-26 лютого 2014 р., Штральсунд, Німеччина), BioSyst.EU 2013. Global Systematics (18-22 лютого 2013 р., Відень, Австрія), Network Meeting of the Alexander von Humboldt Foundation (20–22 березня 2013 р., ГанOVER, Німеччина), «Advances in Modern Phycology» V International Conference (23-25 травня 2012 р., Київ, Україна), 9-th International Phycological Congress, Informal Workshop «Freshwater green algal systematics» (2–8 серпня 2009 р., Токіо, Японія), «Algal Culture Collections 2008» (9-10 червня 2008 р., Обан, Велика Британія), International Symposium «Biology and Taxonomy of green algae V» (25-29 червня 2007 р., Смоленіце, Словаччина), International Conference «Algae in terrestrial ecosystems» (27-30 вересня 2005 р., Канів, Україна), XVII International Botanical Congress (17-23 липня 2005 р., Відень, Австрія), Biology and Taxonomy of Green Algae IV (24-28 червня 2002 р., Смоленіце, Словаччина).

**Публікації.** Основні положення дисертаційної роботи відображено в 42 наукових публікаціях, серед яких 15 статей опубліковано у виданнях, що входять до першого (Q1) та другого (Q2) кuartилів за галуззю знань, яка відповідає темі наукового дослідження, відповідно до класифікації SCImago Journal and Country Rank або Journal Citation Reports. Серед решти публікацій, 8 статей у інших виданнях, індексованих у міжнародних наукометричних базах даних, розділ колективної монографії та 18 публікацій – у матеріалах наукових форумів.

**Структура та обсяг роботи.** Дисертаційна робота складається із вступу, списку публікацій автора, анотації, трьох розділів основної частини та висновків. Повний обсяг дисертації становить 571 стор.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Дисертацією є сукупність наукових публікацій, у яких міститься детальний аналіз сучасного стану наукової проблеми, описані використані біологічні матеріали та методологічні підходи до їхнього вивчення, представлено одержані результати та інтерпретацію в аспекті вирішення поставлених завдань.

### **Стан вивченості водоростей та ціанобактерій ґрунтових біокірочок (огляд літератури)**

Вивченню явища ґрунтових біокірочок приділяється увага в різних країнах світу з точки зору геохімічних та гідрологічних процесів, що в них протікають, фізіолого-біохімічних особливостей та різноманіття організмів, які формують їхню продукційну складову, таксономії та філогенії цих організмів, екології, біогеографії, відгуку на кліматичні зміни тощо (Голлербах, Штина, 1969; Новичкова-Иванова, 1980; Belnap et al., 2001; Taton et al., 2003; Thompson et al., 2006; Weber et al., 2016 та ін.). Дане явище детально та всебічно розглянуто у двох монографічних зведеннях: «Biological Soil Crusts: Structure,



Function, and Management» (2001) та «Biological Soil Crusts: An Organizing Principle in Drylands» (2016).

Найбільш повно досліджені ґрунтові біокірочки територій з аридним та напіваридним кліматом: Європа (Shtina & Bolyshev, 1963; Büdel, 2001), Азія (Hollerbach et al., 1956; Melnikova, 1962; Новичкова-Иванова, 1980; Zhang et al., 2011; Dulić et al., 2017), Близький Схід (Lange et al., 1992; Danin et al., 1998; Büdel & Veste, 2008), Північна Америка (Ashley et al., 1985; Flechtner et al., 1998; Lange et al., 1998; Rosentreter & Belnap, 2001; Lewis & Flechtner, 2002; Hawkes & Flechtner, 2002; Neher et al., 2003; Flechtner et al., 2008), Африка (Новичкова-Иванова, 1980; Büdel et al., 2009; Orlekowsky et al., 2013; Venter et al., 2017); лише окремі відомості наявні щодо біокірочок Південної та Центральної Америки (Büdel et al., 1994; Mühlsteinová et al., 2014; Baumann et al., 2018; Jung et al., 2019; Darienko et al., 2019) і Австралії (Eldridge, 2001; Williams & Büdel, 2012; Williams et al., 2014). Ці дослідження показують, що біокірочки є основним компонентом ґрунтового покриву даних регіонів. Зокрема, 85-95% поверхні незадернованих пісків пустелі Негев (Ізраїль) вкриті біокірочками, які тут є основним елементом рослинності (Lange et al., 1992). Для пустелі Калахарі (Південна Африка) цей показник становить 11–95% (Tomas & Dougill, 2006), а для аридних територій Південно-Західної Африки – до 87% (Büdel et al., 2009). Загалом, ґрунтові біокірочки відіграють значну роль у глобальній фіксації вуглецю (біля 6%) та азоту (біля 40%) (Elbert et al., 2009), формують значну частину біомаси (100-1500 мг хлорофілу/м<sup>2</sup>) в аридних регіонах (Büdel, 2002).

Ґрунтові біокірочки також добре розвинені в холодних регіонах, полярних та альпійських, де низькі температури разом з лімітованою вологою створюють екстремальні умови для розвитку вищих рослин. Окремі дані наявні щодо біокірочок Арктичних островів, тундрової зони Європи та Антарктиди (Novichkova-Ivanova, 1963; Broady, 1989; Green & Broady, 2001; Kaštovská et al., 2005; Matuła et al., 2007; Novakovskaya & Patova, 2013; Büdel & Colesie, 2014; Pushkareva et al., 2016; Williams et al., 2016; Kern et al., 2019). На високогір'ях біокірочки досліджені в Альпах (Reisigl, 1964; Türk & Gärtner, 2001). Також є певні відомості щодо біокірочок екстремальних мікромісцезростань помірної зони: ксерофітних степів, лісових стежок, холодних пустель Північної Америки та локалітетів із порушеним ґрунтовим покривом – згарищ, шахтних відвалів, приморських дюн тощо (Komáromy, 1976; Johansen et al., 1982, 1993; Lukešová & Komárek, 1987; Lukešová, 2001; Rosentreter & Belnap, 2001; Langhans et al., 2009; Corbin & Thiet, 2020).

Розрізняють декілька типів біологічних ґрунтових кірочок, в залежності від структури та складу організмів, що їх формують, а також стадії розвитку (Büdel et al., 2009; Büdel & Colesie, 2014; Colesie et al., 2016; Jung et al., 2018). За час свого існування біокірочки проходять певні стадії сукцесії, починаючи з мікроскопічних плівочок на поверхні ґрунту до міцних шкірястих чи крихких макроскопічних розростань. Водоростева стадія розвитку кірочки з часом

змінюється моховою чи лишайниковою, в якій водорості та ціанобактерії присутні як супутні організми з низькою рясністю.

Активно досліджуються екологічні та екофізіологічні ознаки водоростей та ціанобіктерій, ізольованих з ґрунтових біокірочок як аридних регіонів (Büdel & Lange, 1991; Lange et al., 1992; 1998), так і високогір'я та помірної зони (Karsten et al. 2010; Holzinger et al. 2011).

Попри це, основна маса знань щодо водоростей та ціанобактерій ґрунтових біокірочок отримана класичними методами, тоді як молекулярно-філогенетичне вивчення цих організмів розпочато не так давно (Büdel et al., 2009; Patzelt et al., 2014; Rippin et al., 2018; Mehda et al., 2021 та ін.). У зв'язку з цим, існують значні прогалини у таксономії водоростей та ціанобактерій біокірочок, хоча не викликає сумніву, що в таких своєрідних умовах активно йдуть процеси спеціалізації та видоутворення.

Зокрема, таксономія роду *Klebsormidium* (Klebsormidiophyceae, Streptophyta), що не лише входить до складу ґрунтових біокірочок, а безпосередньо їх формує, особливо у регіонах з помірним кліматом, була досить суперечлива. Даний представник характеризується відносно простою, однотипною та при цьому досить мінливою у культурі будовою слані, що не сприяє чіткому розмежуванню окремих видів і побудові морфологічної системи (Lokhorst, 1996; Škaloud, 2006). Так само, застосування лише морфологічних методів до ідентифікації та таксономії одноклітинних зелених водоростей можливе лише до рівня роду або морфологічних комплексів видів, тоді як методи молекулярної філогенії дозволяють виявити нові філогенетичні лінії (Leliaert et al., 2014; Büdel et al., 2016). Таксономія ціанобактерій також наразі зазнає корінної перебудови через залучення нових методів та поглядів на їх різноманіття. Відкриття нових філогенетичних ліній серед ціанобактерій, які в подальшому досліджуються та описуються як нові таксони, стало типовою практикою при вивченні ґрунтових біокірочок аридних регіонів (Mühlsteinová et al. 2014; Osorio-Santos et al. 2014; Pietrasiak et al., 2019).

В Україні вивчення водоростей біокірочок, як складової ґрунтової альгофлори, було розпочато Н.В. Кондратьєвою та Н.П. Масюк і надалі розвинуто представниками української школи ґрунтових альгологів на чолі з І.Ю. Костіковим. Хоча основним об'єктом досліджень були ґрунтові водорості, тобто автотрофні організми, рівномірно розподілені у ґрунті між його часточками, явищу ґрунтових біокірочок також приділялася увага (Костіков та ін., 2001). Зокрема, альгологічне вивчення ґрунтових біокірочок із особливою увагою до їхньої ролі у заростанні дніпровських пісків та сукцесії рослинності на піщаних островах, а також схилів лісових яруг та протиерозійної ролі біокірочок, здійснено у Канівському природному заповіднику (Бойко и др., 1984; Костіков, 1990; Костиков и Рыбчинский, 1995). Активні дослідження ґрунтових біокірочок ведуться на півдні України при вивченні специфічних місцезростань солончаків (Яровий та ін., 2007, 2008; Солоненко та ін., 2006; Арабаджи-Типенко и др., 2020 та ін.). Відомості щодо ціанобактерій, що формують біокірочки, були отримані також впродовж вивчення їх складу та

особливостей поширення у ґрунтах степової зони України (Приходькова, 1992). Гіпергалінні екосистеми України, що характеризуються рясним розвитком ґрунтових біокірочок, також були досліджені комплексно, з урахуванням ціанобактеріального та водоростевого компонентів (Виноградова, Дарієнко, 2008; Vinogradova & Darienko, 2008; Виноградова, 2012).

Таким чином, попри довгий період всебічного вивчення явища ґрунтових біокірочок, як у світі, так і на теренах України, низка питань стосовно різноманіття їхнього водоростевого компоненту, таксономії, екології та поширення, залишається відкритою, особливо з огляду на можливість застосування нових методів до їх вивчення. Пізнання явища ґрунтових біокірочок, як невід'ємної складової природних комплексів, є необхідним для вирішення низки теоретичних та практичних питань, які постають з проблеми оцінки, охорони та моніторингу біорізноманіття наземних екосистем в умовах глобальної зміни клімату.

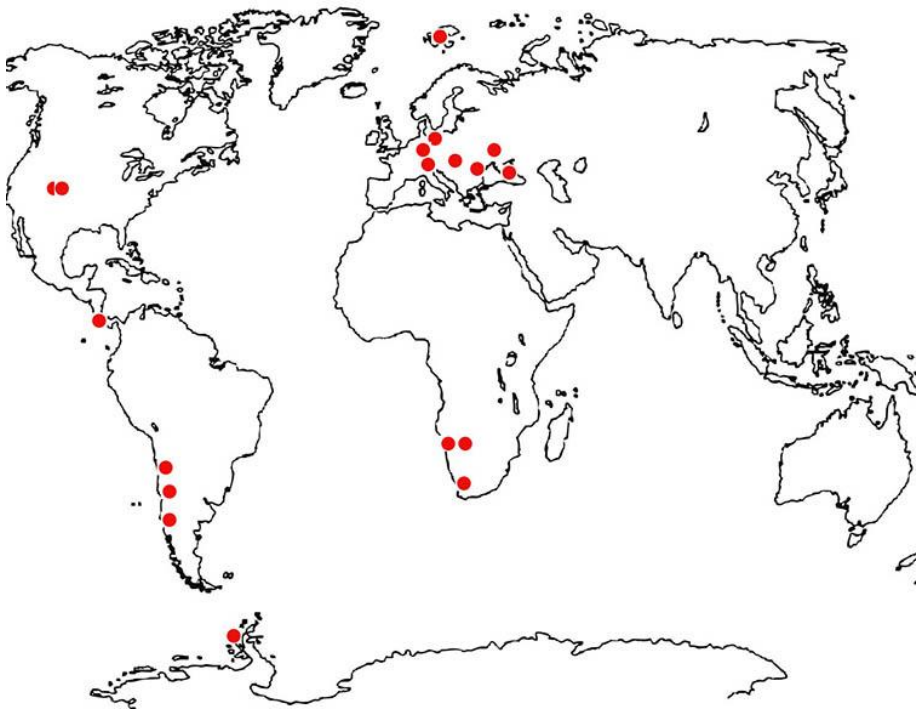
### **Матеріали та методи дослідження**

Дисертаційне дослідження базується на матеріалах, відібраних у наземних екосистемах різноманітних за кліматичними і екологічними умовами регіонів світу. На території України та Німеччини альгологічні збори були здійснені автором під час експедиційних виїздів до приморських екосистем Азовського (Казантипський природний заповідник та околиці – пересип Акташського озера), Чорного (Дунайський біосферний заповідник та околиці – Катранівська коса) та Балтійського морів (острови Усдом та Рюген, Мекленбург-Передня Померанія: локалітети Прора, Глове, Баабе, Цемпін, Карлсхаген), узбережжя уздовж берегової лінії неподалік м. Росток (Рідензі, Хайлігендам, Варне-Мюнде, Бад Преров). Зразки із лісів (біосферний заповідник «Шорфхайде-Чорін») та штучних гіпергалінних екосистем Німеччини (Нижня Саксонія та Саксонія Ангальт: Едези, Шреяхн, Виетзе, Теученталь), різних рослинно-кліматичних зон Чилі (національні парки «Панде-Азукар», «Ла Кампана» та «Нахелбута» і природний заповідник «Санта Грація»), Антарктичних островів (Ардлі і острови Короля Георга) та острова Свальбард, Норвегія (локалітети Ні-Алесунд і Лонгієрбієн) були відібрані німецькими колегами, у співдружності з якими вони були опрацьовані (Рис. 1).

Фрагменти біокірочок відбирали скальпелем по можливості у непошкодженому вигляді і вміщали у паперові коробочки або чашки Петрі. У лабораторії проби висушували і зберігали у темряві. Одночасно з відбором альгологічних проб, проводили відбір піску чи ґрунту для фізико-хімічного аналізу. Загалом було відібрано та опрацьовано 163 зразки.

Зразки вивчали прямим мікроскопіюванням (для реєстрації домінуючих видів), та методом культур (агарові накопичувальні культури з подальшим виділенням альгологічно-чистих культур). Для культивування використовували поживні середовища 1N та 3N BBM (Bischoff & Bold, 1963), штами ціанобактерій культивували на BG-11 (Stanier et al., 1971). При дослідженні біокірочок штучних гіпергалінних екосистем, до середовища 1N чи 3N BBM

додавали NaCl (30 г/л). Загалом, виділено та введено у культуру біля 300 штамів водоростей і ціанобактерій. При проведенні досліджень з таксономії, додатково вивчали колекційні штами з колекцій SAG (Німеччина), CCAP (Великобританія), UTEX (США), ВССО (Чехія) та АСКУ (Україна). В цілому, додатково досліджено біля 150 штамів.



**Рис. 1.** Карта-схема відбору проб та походження штамів, досліджених у роботі

При ідентифікації водоростей та ціанобактерій біокірочок застосовано інтегративний підхід: класичні культуральні та мікроскопічні методи (світлова і трансмісійна електронна мікроскопія), виділення альгологічно-чистих культур у поєднанні з молекулярно-філогенетичними методами. Робота в більшості проведена у лабораторіях університетів міст Росток та Геттінген (Німеччина), а також міста Інсбрук (Австрія). Молекулярно-філогенетичні методи включали лабораторну частину (екстракція ДНК, ПЛР та сиквенсінг у лабораторії чи на комерційних засадах), а також подальшу обробку послідовностей (асемблінг, BLAST, вирівнювання, побудова філогенетичних дерев, вторинної структури РНК тощо). Були проаналізовані нуклеотидні послідовності 18S рРНК/16S рРНК та регіон ITS/16S–23S ITS, для деяких штамів – *rbcL* та його спейсери. Деякі отримані послідовності здані до міжнародної бази NCBI (загалом, 240 послідовностей).

При роботі з послідовностями, побудові філогенетичних дерев та вторинної структури РНК, використані наступні пакети програм та інтернет-ресурси: Geneious (версія 8.1.8), SeqAssem, BLASTn, MAFFT (версія 7), BioEdit (версія 7.2), MEGA (версії 6 та 10), MrBayes 3.2.2, GARLI 2.1., mfold та Pseudoviewer. Філогенетичні дерева будували методами приєднання сусідів (Neighbor Joining, NJ), максимальної правдоподібності (Maximum Likelihood, ML) та Байєсівським методом (Bayesian).

Отримані дані аналізували із застосуванням методів порівняльної флористики та математичної статистики, що виконувалися на основі пакетів прикладних комп'ютерних програм.

### Результати досліджень та їх обговорення

#### Різноманіття, філогенія, екологія та поширення водоростей і ціанобактерій у ґрунтових біокірочках окремих наземних екосистем та регіонів

У біокірочках різних регіонів та екосистем помірної зони (приморські дюни, лісові і штучно створені гіпергалінні екосистеми Європи), рослинно-кліматичних зон Чилі (пустелі, напівпустелі, сухі і вологі ліси) та тундрових екосистем полярних регіонів (острів Свальбард і Антарктичні острови), на основі інтегративного підходу, застосованого до окремих штамів, в цілому, виявлено 313 видів водоростей і ціанобактерій (Chlorophyta – 160 видів, Streptophyta – 30, Ochrophyta – 48 (Xanthophyceae – 26, Eustigmatophyceae – 4 та Bacillariophyceae – 18), Cyanobacteria – 75).

**Біокірочки прибережних дюн Європи** характеризуються різноманітним видовим складом водоростей і ціанобактерій. Виявлено 143 види: Chlorophyta – 69 видів, Streptophyta – 13, Ochrophyta – 20 (Xanthophyceae – 7, Eustigmatophyceae – 2 та Bacillariophyceae – 11), Cyanobacteria – 41 (Таблиця 1). Показано переважання зелених водоростей при значній ролі ціанобактерій у їхньому формуванні. При цьому вологолюбні ціанобактерії та водорості з родів *Carteria*, *Chlorolobion*, *Monoraphidium*, *Tetradesmus*, *Geminella*, *Cylindrocystis*, *Bumilleriopsis*, *Xanthonema*, *Crinalium*, *Hormoscilla*, *Wollea*, *Anagnostidinema* відігравали помітнішу роль у вологіших та прохолодніших умовах Балтійських островів (виявлено 91 вид: Chlorophyta – 43 види, Streptophyta – 12, Ochrophyta – 14 (Xanthophyceae – 5, Eustigmatophyceae – 2 та Bacillariophyceae – 7), Cyanobacteria – 22), порівняно з українськими територіями. Домінуючими видами тут виступають *Microcoleus vaginatus*, *Nostoc edaphicum*, *N. cf. commune*, *Wollea* sp., *Lyngbya* sp., *Stenomitos* sp., *Lobochlamys* sp., *Klebsormidium crenulatum*, *K. mucosum*, *K. flaccidum*.

У складі біокірочок були виявлені рідкісні та цікаві у флористико-таксономічному сенсі представники водоростей та ціанобактерій: *Carteria* cf. *crucifera*, *Coelastrella aeroterrestica*, *Tetracystis* cf. *sarcinalis*, *Desmochloris* cf. *halophila*, *Heterococcus leptosiroides*, *Pleurochloris meiringensis*, *Wollea* sp., *Hormoscilla pringsheimii*, *Nodosilinea epilithica* та ін. Широко поширений тут представник *Tetradesmus* був описаний як новий вид (*T. arenicola* Mikhailyuk & P.Tsarenko). Дослідження культур інших водоростей з використанням інтегративного підходу дозволило здійснити низку номенклатурно-таксономічних комбінацій (*Heterochlamydomonas callunae* (Ettl) Mikhailyuk & Demchenko, *Xerochlorella minuta* (J.B. Petersen) Mikhailyuk & P.Tsarenko, *X. dichotoma* (H.P. Ling & R.D. Seppelt) Mikhailyuk & P.Tsarenko), емендацій та епітипифікацій (*Actinochloris sphaerica*, *Crinalium magnum*, *Eremochloris sphaerica*).

Таблиця 1

Систематична структура водоростей біологічних ґрунтових кірочок досліджених регіонів

| Таксон                 | Приморські екосистеми |              |               | Німеччина       |           | Чилі      | Полярні регіони |                     |
|------------------------|-----------------------|--------------|---------------|-----------------|-----------|-----------|-----------------|---------------------|
|                        | Балтійські острови    | дельта Дунаю | мис Казан-тип | ліси            | відвали   |           | Свальбард       | Антарктичні острови |
| <b>Chlorophyta</b>     | <b>43</b>             | <b>32</b>    | <b>18</b>     | <b>43</b>       | <b>24</b> | <b>45</b> | <b>50</b>       | <b>27</b>           |
| Chlorophyceae          | 24                    | 15           | 8             | 25              | 9         | 23        | 24              | 10                  |
| Trebouxiophyceae       | 18                    | 17           | 10            | 17              | 10        | 22        | 26              | 17                  |
| Ulvophyceae            | 1                     | —            | —             | —               | 5         | —         | —               | —                   |
| <b>Streptophyta</b>    | <b>10</b>             | <b>7</b>     | <b>5</b>      | <b>5</b>        | <b>—</b>  | <b>12</b> | <b>10</b>       | <b>6</b>            |
| Chlorokybophyceae      | 1                     | 1            | —             | —               | —         | —         | —               | —                   |
| Klebsormidiophyceae    | 8                     | 5            | 5             | 4               | —         | 10        | 8               | 6                   |
| Zygnematophyceae       | 1                     | 1            | —             | 1               | —         | 2         | 2               | —                   |
| <b>Ochrophyta</b>      | <b>13</b>             | <b>5</b>     | <b>8</b>      | <b>3</b>        | <b>—</b>  | <b>5</b>  | <b>22</b>       | <b>16</b>           |
| Xanthophyceae          | 4                     | 3            | 1             | 1               | —         | 3         | 20              | 6                   |
| Eustigmatophyceae      | 2                     | —            | 2             | 2               | —         | 2         | 2               | 1                   |
| Bacillariophyceae      | 7                     | 2            | 5             | не досліджували |           |           | 9               |                     |
| <b>Суанопрокариота</b> | <b>20</b>             | <b>16</b>    | <b>23</b>     | <b>1</b>        | <b>6</b>  | <b>24</b> | не досліджували |                     |
| Pleurocapsales         | —                     | —            | —             | —               | —         | 1         |                 |                     |
| Chroococciopsidales    | —                     | —            | —             | —               | —         | 1         |                 |                     |
| Chroococcales          | 1                     | 1            | 1             | —               | —         | —         |                 |                     |
| Synechococcales        | 5                     | 4            | 10            | —               | 5         | 12        |                 |                     |
| Oscillatoriales        | 6                     | 5            | 3             | 1               | —         | 5         |                 |                     |
| Nostocales             | 8                     | 6            | 9             | —               | 1         | 5         |                 |                     |
| <b>Всього видів</b>    | <b>86</b>             | <b>60</b>    | <b>54</b>     | <b>52</b>       | <b>30</b> | <b>86</b> | <b>82</b>       | <b>49</b>           |

Застосування філогенетичних методів при ідентифікації виділених штамів водоростей і ціанобактерій біокірочок Балтійських островів засвідчило можливість точного визначення до рівня виду для 37.7% вивчених штамів; при цьому для 15% штамів результати попереднього визначення за морфологічними ознаками потребували виправлення. Для 50.9% штамів ідентифікація за допомогою молекулярних маркерів можлива лише до рівня роду або групи споріднених видів через попередність, неповноту або повну відсутність сучасних таксономічних ревізій певних таксонів. Ідентифікація до рівня роду проблематична для 11.3% штамів. Загалом, культурально-мікроскопічний метод та інтегративний підхід забезпечили подібні результати щодо різноманіття водоростей і ціанобактерій біокірочок, а завдячуючи інтегративному підходу вдалося одержати уточнені відомості стосовно систематичного положення низки домінуючих та рідкісних представників.

Серед проаналізованих факторів середовища, що впливають на видовий склад водоростей і ціанобактерій біокірочок балтійських дюн, а саме текстура

піску (за гранулометричним аналізом), рН, електропровідність, вміст глини та мулу, карбонатів, загальний вміст вуглецю, азоту та фосфору, вирішальними є текстура піску та, в певній мірі, електропровідність і вміст карбонатів (Таблиця 2). Зокрема, показано схожість видового складу локалітетів з дрібним піском, який характеризується низькою електропровідністю і вмістом карбонатів (Баабе (острів Рюген), Карлсхаген і Цемпін (острів Уздом)), та тих, що мають середній пісок і вищі значення електропровідності та вмісту карбонатів (Прора та Глове (Рюген), див. Рис. 2). Особливо яскраво відміни видового складу біокірочок цих локалітетів проявляються на рівні ціанобактерій, які представлені переважно видами з товстими трихомами (*Lyngbya* sp., *Microcoleus vaginatus*, *Coleofasciculus* sp.) у локалітетах з середнім піском та тонкими трихомами чи дрібними клітинами (види *Nostoc*, *Wollea*, *Timaviella*, *Stenomitos*, *Phormidesmis*) у локалітетах з дрібним піском. Проте, серед проаналізованих властивостей піску, лише вміст фосфору статистично достовірно впливає на склад водоростей і ціанобактерій біокірочок, що має своє пояснення, адже саме фосфор є одним з найбільш лімітованих макроелементів у екосистемі піщаних дюн (Maun, 2009).

Таблиця 2

Деякі фізико-хімічні параметри піску з приморських дюн дельти Дунаю (1 – Катранівська коса, 2 – Жебріяньське пасмо, 3 – Жебріяньська бухта), мису Казантип і островів Балтійського моря (Рюген: 4 – Глове, 5 – Прора, 6 – Баабе; Уздом: 7 – Цемпін, 8 – Карлсхаген)

| Показник                                     | Дельта Дунаю    |      |      | Мис<br>Казантип                | Балтійські острови |      |                                |       |               |
|--|-----------------|------|------|--------------------------------|--------------------|------|--------------------------------|-------|---------------|
|  |                 |      |      |                                | Рюген              |      |                                | Уздом |               |
|  | 1               | 2    | 3    |                                | 4                  | 5    | 6                              | 7     | 8             |
| рН   | 6.9             | 6.3  | 6.5  | 6.4                            | 7.2                | 7.2  | 7.3                            | 7.1   | 7.5           |
| Електропровідність,<br>мкСм/см <sup>-1</sup> | 41.1            | 61.9 | 37.3 | 188.3                          | 41.5               | 32.5 | 21                             | 15.5  | 17            |
| СаСО <sub>3</sub> (%)                        | 3.2             | 5.3  | 2.4  | 83.5                           | 11.1               | 5.6  | 1.5                            | 0.7   | 0.8           |
| Загальний вуглець (г/кг <sup>-1</sup> )      | не досліджували |      |      |                                | 10.79              | 5.42 | 2.25                           | 0.67  | 0.79          |
| Загальний азот (г/кг <sup>-1</sup> )         | не досліджували |      |      |                                | 0.13               | 0.14 | 0.21                           | 0.13  | 0.09          |
| Загальний фосфор (г/кг <sup>-1</sup> )       | не досліджували |      |      |                                | 0.31               | 0.23 | 0.11                           | 0.09  | 0.16          |
| Великозернистий пісок (%)                    | 0.1             | 0.2  | 0    | 59.1                           | 0.5                | 5.2  | 0.3                            | 0     | 0             |
| Средньозернистий пісок (%)                   | 89.5            | 90.4 | 89.6 | 33.4                           | 83.2               | 89   | 75                             | 79.7  | 7.8           |
| Дрібнозернистий пісок (%)                    | 9.8             | 9.1  | 9.9  | 3.6                            | 12.8               | 2.5  | 22.6                           | 16.7  | 89.2          |
| Мул та глина (%)                             | 0.6             | 0.3  | 0.5  | 3.9                            | 3.5                | 3.4  | 2                              | 3.6   | 3             |
| Клас за гранулометричним складом             | середній пісок  |      |      | середній піщаний великий пісок | середній пісок     |      | дрібний піщаний середній пісок |       | дрібний пісок |



Склад водоростей і ціанобактерій біокірочок дюн узбережжя Чорного моря є досить подібним до Балтійських островів, оскільки в обох випадках субстратом є кварцевий пісок. Проте, біокірочки чорноморських дюн характеризуються біднішим видовим складом (60 видів: Chlorophyta – 32 види, Streptophyta – 7, Ochrophyta – 5 (Xanthophyceae – 3 та Bacillariophyceae – 2), Cyanobacteria – 16; Таблиця 1) та присутністю галофільних видів (*Lyngbya* cf. *aestuarii*, *Coleofasciculus chthonoplastes*, *Phormidium* cf. *paulsenianum*). Домінуючими видами тут виступають *Klebsormidium crenulatum*, *K. flaccidum*, *Microcoleus vaginatus*, *M. autumnalis*, *Nostoc* cf. *commune*, *N. edaphicum*, *Coleofasciculus chthonoplastes*. Використання інтегративного підходу дозволило виявити ряд рідкісних та цікавих у флористико-таксономічному сенсі водоростей і ціанобактерій: *Bracteacoccus bullatus*, “*Chlamydomonas*” cf. *hydra*, *Heterotetracystis* sp., *Tetracystis pampae*, “*Parietochloris*” cf. *ovoidea*, *Pleurostrosarcina terriformae*, *Trebouxia* cf. *aggregata*, *Pleurochloris meiringensis*, один з яких описаний як новий вид (*Tetradismus arenicola* Mikhailyuk & P.Tsarenko), інший – новий рід (*Streptosarcina* Mikhailyuk & Lukešová з видом *S. arenaria* Mikhailyuk & Lukešová), деякі штами стали матеріалом для таксономічної комбінації (*Xerochlorella minuta* (J.B. Petersen) Mikhailyuk & P.Tsarenko).



**Рис. 2.** Дендрит флористичної спільності видового складу водоростей і ціанобактерій ґрунтових біокірочок дюн дельти Дунаю (1 – Катранівська коса, 2 – Жебріянське пасмо, 3 – Жебріянська бухта), мису Казантип та островів Балтійського моря (Рюген: 4 – Глове, 5 – Прора, 6 – Баабе, і Уздом: 7 – Карлсхаген, 8 – Цемпін), побудований на основі коефіцієнту флористичної спільності Сьоренсена-Чекановського. Значення коефіцієнту (%) вказані біля гілок.

Порівняння видового складу водоростей і ціанобактерій біокірочок балтійських та чорноморських дюн (Рис. 2) показали значну схожість як на рівні домінуючого комплексу, так і за складом супутніх видів, деякі з яких, ймовірно, пов'язані з піщаними екосистемами: *Tetradismus arenicola*,



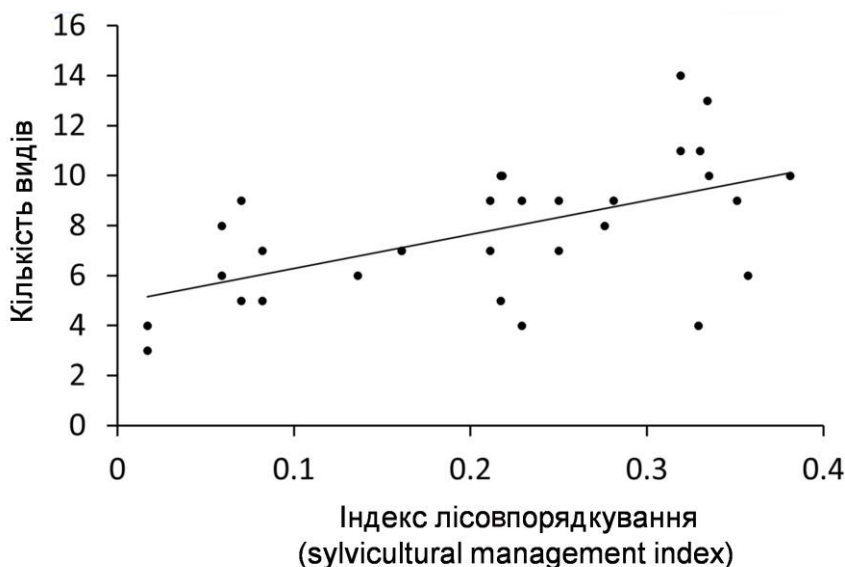
*Nodosilinea epilithica*, *Actinochloris sphaerica*, *Chlorolobion lunulatum*, *Monoraphidium* cf. *pusillum*, *Pseudomuriella aurantiaca*, *Xerochlorella minuta*, *Klebsormidium crenulatum*, *Pleurochloris meiringensis*. Проте, порівняльний флористичний та статистичний аналізи показали, поряд зі значним впливом на склад водоростей і ціанобактерій біокірочок текстури піску та, в деякій мірі, рН (Таблиця 2), також таких показників як середньорічна кількість опадів та середньорічна температура регіону дослідження. Це пояснює бідніший склад чорноморських біокірочок та присутність галофільних видів на дюнах Чорного моря, як сухішого та жаркішого регіону порівняно з Балтійськими островами.

Біокірочки приморських екосистем мису Казантип, що розвиваються на ракушняковому піску та глинистих осипах, мають своєрідний видовий склад (54 види, Chlorophyta – 18 види, Streptophyta – 5, Ochrophyta – 8 (Xanthophyceae – 1, Eustigmatophyceae – 2 та Bacillariophyceae – 5), Cyanobacteria – 23, Таблиця 1), що характеризується високим різноманіттям та переважаючою роллю ціанобактерій. Домінуючими видами виступають ціанопротисти: *Microcoleus vaginatus*, *Scytonema ocellatum*, *Hassallia byssoidea*, *Timaviella edaphica*, *Nostoc commune*, *N. edaphicum*, *Coleofasciculus chthonoplastes*; лише в зразку кірочок з глинистих осипів був зареєстрований *Klebsormidium mucosum*. Завдяки використанню інтегративного підходу, виявлено ряд рідкісних та цікавих з флористико-таксономічного погляду ціанобактерій і водоростей: *Roholtiella edaphica*, *Bracteacoccus* cf. *xerophilus*, *Interfilum paradoxum* та ін. Штами з Казантипу стали основою для опису двох нових видів з роду *Oculatella* (*O. ucrainica* O.Vinogradova & Mikhailyuk та *O. kazantipica* O.Vinogradova & Mikhailyuk); штами *Timaviella* послужили матеріалом для таксономічної комбінації (*Timaviella edaphica* (Elenkin) O.Vinogradova & Mikhailyuk).

Порівняння видового складу водоростей і ціанобактерій ґрунтових біокірочок із таким приморських літофільних угруповань (відслонень вапняку та кварцевих друз на ґрунті, всього виявлено 41 вид та цілу низку цікавих зелених ульвофіцієвих водоростей – *Stenocladus circinnatus* та *Pseudendoclonium* sp., а також ціанобактерій з родів *Chondrocystis*, *Gloeocapsa* та *Gloeocapsopsis*) показало суттєві відмінності у домінуючому комплексі та видовому складі, який подібний до біокірочок лише на 30%. Порівняння складу водоростей і ціанобактерій біокірочок пісків мису Казантип з чорноморськими та балтійськими дюнами (Рис. 2) показало суттєві відмінності у видовому складі та домінуючому комплексі, причиною чому, в першу чергу, є різний хімічний та фізичний склад субстрату. На мисі Казантип пляжі складені ракушняковим піском, що містить крупні часточки, які виникли в результаті руйнування древніх кальцитів і мушель молюсків. Даний субстрат значно засоленіший та складається з великих часточок і має високий вміст карбонатів (Таблиця 2). Таким чином, порівняння наших даних з Німеччини та України показує, що на розподіл водоростей і ціанобактерій в біокірочках приморських дюн впливають характеристики і склад піску, а також географічні особливості регіону дослідження.

**Біокірочки, що розвиваються у букових та соснових лісах центральної Німеччини** (стежки, пристовбурові ділянки, місця вивалів дерев, схили яруг тощо), характеризуються значним переважанням зелених водоростей та майже повною відсутністю ціанопрокаріот (52 види, Chlorophyta – 43 види, Streptophyta – 5, Ochrophyta – 3 (Xanthophyceae – 1 та Eustigmatophyceae – 2), Cyanobacteria – 1, Таблиця 1), що пов'язано із низьким значенням рН лісових ґрунтів, несприятливим для розвитку ціанобактерій (Голлербах и Штина, 1969; Hoffmann, 1989). Серед ціанобактерій виявлений лише широко поширений *Microcoleus vaginatus*. Біокірочки переважно формують представники *Klebsormidium*, що тяжіють до зростання у вологих та затінених місцях (*K. flaccidum*, *K. cf. nitens*, *K. cf. subtile*) і протонема моху. Серед супутніх видів також виявлено багато вологолюбних представників зелених водоростей родів *Chlorococcum*, *Chloromonas*, *Tetracystis*, *Myrmecia* та ін. Виявлено ряд рідкісних та цікавих у флористико-таксономічному сенсі зелених водоростей: *Coelastrella aeroterrestica*, *Chlorococcum echinozygotum*, *Coleochlamys* sp., *Heterochlamydomonas callunae*, *Elliptochloris bilobata*, *Myrmecia astigmatica*, один зі штамів яких увійшов до ревізії *Xerochlorella* та став матеріалом для таксономічної комбінації і емендації *X. minuta*.

На ділянках лісу, де проводився лісовий менеджмент, біокірочки розвивалися інтенсивніше та характеризувалися багатшим видовим складом (Рис. 3), який досягався через значний розвиток супутніх одноклітинних водоростей. Це, ймовірно, пов'язано із порушенням рослинного покриву через вирубки та насадження лісу.



**Рис. 3.** Залежність видового різноманіття водоростей в біокірочках лісів від індексу лісовпорядкування. Природні ліси мають низький індекс, чим більш упорядкований ліс, тим вищий індекс.

**Біокірочки штучно створених гіпергалінних екосистем** (відвали після видобутку поташу, Німеччина) характеризуються специфічним видовим складом водоростей і ціанобактерій (досліджено 76 штамів 30 видів, Chlorophyta – 24 види та Cyanobacteria – 6, Таблиця 1) зі значною участю представників класу Ulvophyceae (Chlorophyta). Це пов'язано із загальною

приуроченістю даного класу водоростей до засоленних місцезростань; серед них багато морських видів та наземних водоростей, що тяжіють до засоленних ґрунтів (Darienko & Pröschold, 2017; Škaloud et al., 2018). Типового для помірної зони утворювача біокірочок – роду *Klebsormidium*, тут не знайдено, оскільки він є нестійким до сольового стресу (Karsten et al., 2010), натомість поширені нитчасті ульвофіцієві водорості родів *Chlorothrix* та *Pseudendoclonium*.

Більшість виявлених таксонів зелених водоростей (також представників інших класів) та ціанобактерій (60% видів) відомі як ті, що є витривалими до засолення або типовими для місцезростань з підвищеним рівнем солоності – *Alvikia* sp., *Borodinellopsis texensis*, *Tetrademus* cf. *dissociatus*, *Desmochloris* cf. *halophila*, *Halochlorococcum* sp., “*Pseudophormidium*” *battersii*, *Cyanocohniella* sp. та ін. Застосування інтегративного підходу дозволило виявити 18 нових філогенетичних ліній, які можуть бути описані як нові для науки таксони при належному подальшому вивченні: роди *Alvikia*, *Borodinellopsis*, *Planophila*, *Watanabea*, *Chloroidium*, *Halochlorococcum*, *Chlorothrix*, *Cyanocohniella* та ін. Цікаво, що серед цих нових ліній три співпадають з тими, що були виявлені у біокірочках Балтійських островів та мису Казантип. Це свідчить про специфіку видового складу ґрунтових біокірочок як окремого мікромісцезростання та недостатню вивченість наземних гіпергалінних екосистем і ґрунтових біокірочок в цілому філогенетичними методами.

**У ґрунтових біокірочках чотирьох рослинно-кліматичних зон Чилі** (Південна Америка) виявлено 87 видів водоростей і ціанобактерій (Chlorophyta – 45 видів, Streptophyta – 12, Ochrophyta – 5 (Xanthophyceae – 3 та Eustigmatophyceae – 2), Cyanobacteria – 24, Таблиця 1). Біокірочки пустелі Атакама (аридний клімат) найбідніші (18 видів) та складені виключно одноклітинними зеленими (переважно требуксієфіцієвими) водоростями і ціанобактеріями, характерними для посушливих умов. Застосування інтегративного підходу дозволило виявити декілька рідкісних та цікавих з флористико-таксономічної точки зору видів – *Elliptochloris perforata*, *Interfilum massjukiae*, *Trichocoleus* cf. *badius*, *Pleurocapsa minor*, *Chroococcidiopsis* sp. З пустелі Атакама нами був описаний новий вид ціанобактерії – *Aliterella chasmolithica* P. Jung, Schermer, Mikhailuyuk & Büdel (Chroococcidiopsidales).

Біокірочки інших локалітетів були переважно створені нитчастими водоростями роду *Klebsormidium*, які в більшості виявилися відмінними від європейських представників та були описані як нові таксони. Найбагатший видовий склад біокірочок зареєстрований у сухих лісах (середземноморський клімат, рослинність з участю слонової пальми *Jubea chilensis*, 40 видів), де переважали зелені водорості. Виявлено, з використанням інтегративного підходу, такі цікаві таксони як *Bracteacoccus bullatus*, *Heterochlamydomonas* cf. *inaequalis*, *Ixipapillifera* sp., *Watanabea borystenica*, та описано новий вид *Klebsormidium chilense* Mikhailuyuk & Samolov. Середні значення різноманіття припадають на відкриті чагарникові напівпустелі (напіваридний клімат) та мішані широколистяно-хвойні ліси (помірний клімат, рослинність з участю *Araucaria araucana*), де виявлено по 27 видів. При цьому, у напівпустелях

переважають за кількістю ціанобактерії, виявлено ряд рідкісних таксонів: *Nodosilinea epilithica*, *Muxacorys* sp., “*Trichocoleus*” *sociatus*, *Fasciculochloris* sp., *Edaphochlorella mirabilis*, описано як нові для науки таксони *Klebsormidium delicatum* Mikhailyuk & Lukešová var. *deserticum* Mikhailyuk & Samolov та *K. deserticola* Mikhailyuk. Мішані широколистяно-хвойні ліси відзначаються переважанням зелених водоростей та рясним розвитком представників *Klebsormidiophyceae*. Крім звичайних видів, тут виявлені унікальні водорості, описані як нові таксони – *Klebsormidium delicatum* var. *americanum* Mikhailyuk & Lukešová та *K. sylvaticum* Mikhailyuk & Samolov.

Попри унікальність складу *Klebsormidium* Південної Америки, тут, з допомогою інтегративного підходу, були виявлені деякі таксони зелених водоростей, що були описані з Європи (*Watanabea borystenica*, *Interfilum massjukiae*, *Elliptochloris perforata*, *Bracteacoccus bullatus*, *Edaphochlorella mirabilis* та ін.). Це вказує на їх широке і можливо космополітичне поширення. Ці дані підтверджують раніше отримані висновки про легке інтерконтинентальне поширення деяких одноклітинних водоростей родів *Chlorella* та *Stichococcus* (Hodač et al., 2016).

Дослідження **біокірочок, складених мохами та лишайниками, полярних регіонів** (Арктичного острова Свальбард (Норвегія) та Антарктичних островів (Ардлі і острови короля Георга)) показало досить різноманітний видовий склад еукаріотичних водоростей: 82 види (*Chlorophyta* – 50 видів, *Streptophyta* – 10, *Ochrophyta* – 22 (*Xanthophyceae* – 20 і *Eustigmatophyceae* – 2)) та 49 видів відповідно (*Chlorophyta* – 27 вид, *Streptophyta* – 6, *Ochrophyta* – 16 (*Xanthophyceae* – 6, *Eustigmatophyceae* – 1 і *Vacillariophyceae* – 9)) ціанобактерії вивчені не були (Таблиця 1). Водорості в біокірочках представлені низькою рясністю, домінуючими організмами є лишайники чи мохи. Видовий склад характеризується певною своєрідністю: поряд із зеленими водоростями, в більшості типовими для наземних екосистем помірної зони, відмічено досить високе різноманіття та частоту трапляння представників *Xanthophyceae* (*Ochrophyta*) з родів *Pleurochloris*, *Pleurogaster*, *Monallantus*, *Botrydiopsis*, *Xanthonema*, *Tribonema* та ін. Високе різноманіття та частота трапляння жовтозелених водоростей, в цілому, типові для наземних місцезростань з холодним кліматом.

Виявлено також низку рідкісних та цікавих у флористико-таксономічному сенсі зелених водоростей: *Pseudodictyochloris multinucleata*, *Stichococcus allas*, *Trochiscia granulata*, *Coelastrella aeroterrestrica*, *Heterotetracystis akinetos*, *Macrochloris cohaerens*, *Gloetila scopulina*, *Pseudochlorella signiensis*. Деякі цікаві знахідки належать до стрептофітових водоростей: *Interfilum* cf. *massjukiae*, *Klebsormidium* cf. *montanum*, *K.* cf. *delicatum*. З біокірочок острова Свальбард нами був описаний новий вид ціанобактерії – *Oculatella crustae-formantes* P. Jung, Brieger-Williams, Mikhailyuk & Büdel (*Synechococcales*).

Порівняння видового складу водоростей біокірочок двох полярних регіонів показало їхню схожість на 45.2%. Біокірочки Свальбарду

характеризуються більшим різноманіттям, як загальним, так і представників класів Xanthophyceae (Ochrophyta) і Zygnematomphyceae (Streptophyta), що тяжіють до вологих місцезростань. Біокірочки Антарктичних островів розвиваються в сухіших умовах.

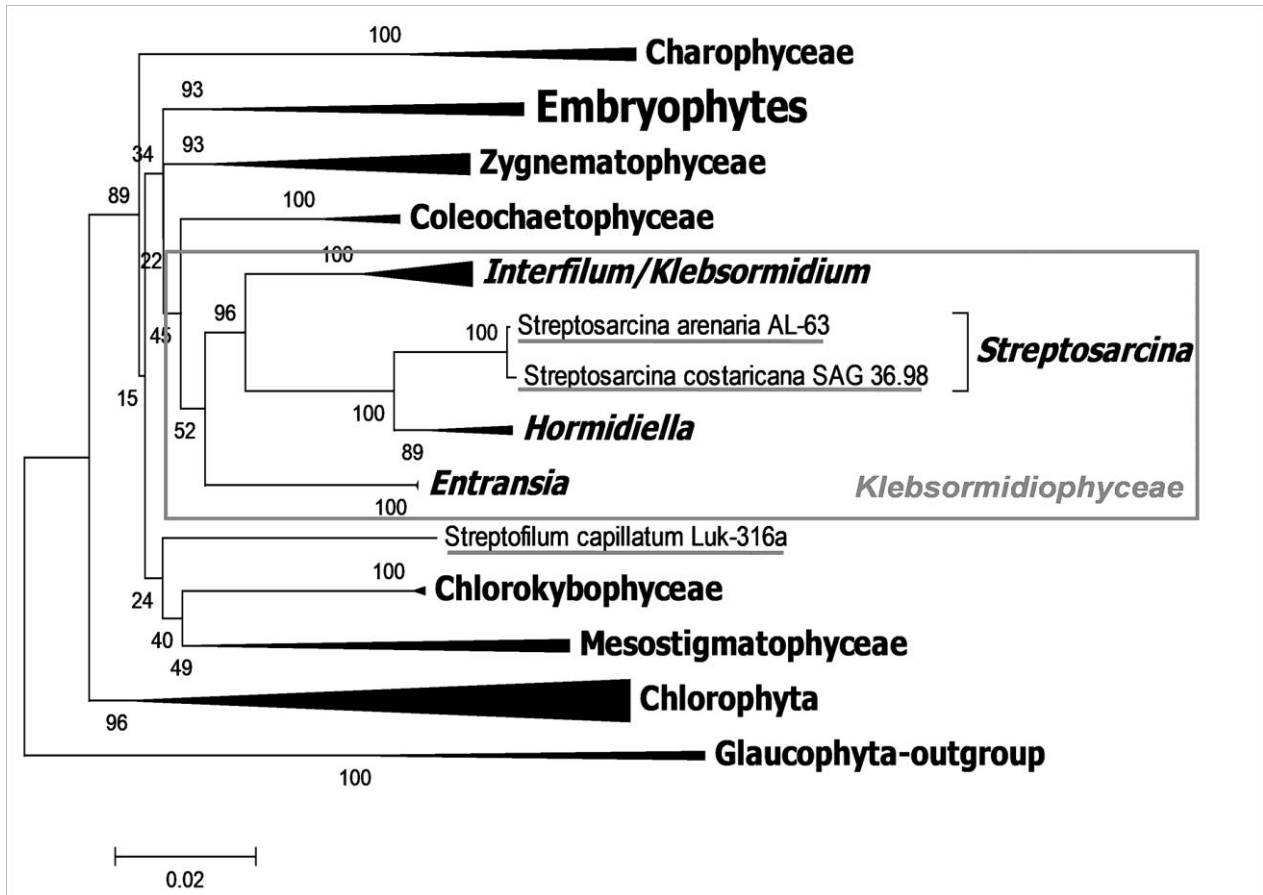
### **Klebsormidiophyceae (Streptophyta) як домінуюча група у біокірочках помірної зони**

Представники класу Klebsormidiophyceae, зокрема центральний його рід, *Klebsormidium*, є типовими широко поширеними наземними водоростями, що не лише входять до складу ґрунтових біокірочок, а безпосередньо їх формують, особливо у регіонах з помірним кліматом. До початку наших досліджень, таксономія Klebsormidiophyceae була досить суперечлива, до даної групи входили виключно нитчасті нерозгалужені водорості. Попередня філогенія класу (Sluiman et al., 2008) довела, що ряд таксонів нитчастих водоростей, попри деяку подібність морфології та ультратонкої будови (роди *Stichococcus*, *Koliella*, *Raphidonema*, *Gloeotila*), не входить до цієї групи, натомість окресливши лише 3 основних роди водоростей, що формують однорядні нерозгалужені нитки – *Klebsormidium*, *Hormidiella* та *Entransia*.

Вивчення біля 150 оригінальних та колекційних штамів за допомогою інтегративного підходу дозволило визначити загальну філогенію водоростей класу Klebsormidiophyceae (Streptophyta). Перш за все, було доведено, що рід *Interfilum*, який перебував у складі порядку Ulotrichales (Chlorophyta) за класичною системою (Мошкова, 1979) є представником Klebsormidiophyceae, що урізноманітнює морфологію даної групи, яка нині, крім нитчастих представників, містить таксони з пакетоподібною та розгалуженою нитчастою сланню. В результаті даної ревізії було описано новий вид *Interfilum massjukiae* Mikhailyuk & al., здійснено емендацію двох інших видів та запропоновано таксономічну комбінацію (*I. terricola* (J.B. Petersen) Mikhailyuk & al.). Знахідка та опис нового роду *Streptosarcina* Mikhailyuk & Lukešová підтвердило існування водоростей з сарциноїдною та розгалуженою сланню серед Klebsormidiophyceae (Рис. 4). Зокрема, описано два види: *S. arenaria* Mikhailyuk & Lukešová з ґрунтів Словаччини (також виявлений у ґрунтових біокірочках чорноморських дюн, Рис. 11 д, е) та *S. costaricana* Mikhailyuk & Lukešová з ґрунтів Центральної Америки.

На основі аналізу морфологічних та ультратонких ознак особливостей ділення клітин представників класу та їхньої мінливості у культурі показано, що ділення відбувається за спільним механізмом, близьким до споруляції. Формування різних морфотипів у даних водоростей залежить від особливостей закладання поперечної клітинної стінки в одній чи кількох площинах, що, в свою чергу, пов'язано з формою клітин, текстурою клітинної оболонки, механічними взаємозв'язками клітин та впливом оточуючого середовища. Показано легкий перехід у водоростей від формування однорядної нитчастої слані до дворядної та пакетоподібною в залежності від віку культури та умов культивування, а також

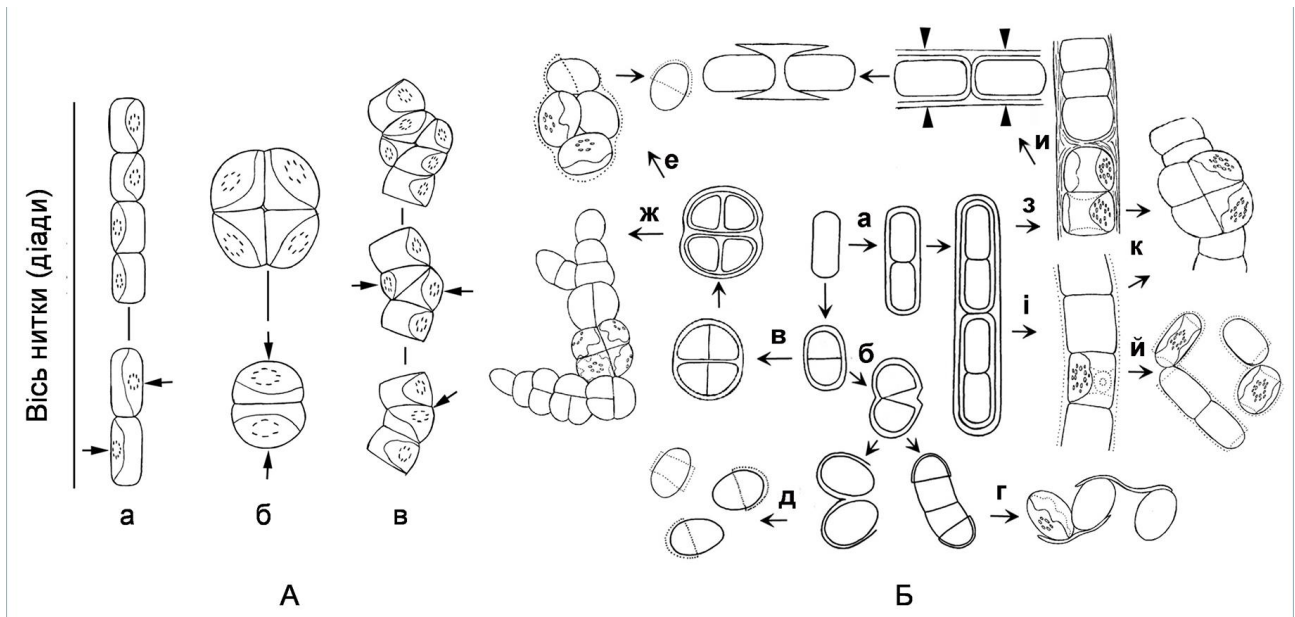
формування H- та шапинкоподібних фрагментів, які є залишками материнських клітинних оболонок. Запропоновано схеми (Рис. 5), що пояснюють формування таломів в межах Klebsormidiophyceae різної морфологічної структури – нитчастої одно- і дворядної, розгалуженої та пакетоподібної.



**Рис. 4.** Молекулярна філогенія Streptophyta на основі об'єднаних послідовностей ITS-1,2 та *rbcL*. Філогенетичне дерево побудовано методом максимальної правдоподібності (ML). Показано філогенетичне положення нових таксонів – родів *Streptosarcina* та *Streptofilum*.

Розроблена загальна філогенія класу дозволила окреслити філогенетичне положення родів *Klebsormidium*, *Interfilum*, *Hormidiella*, *Streptosarcina* та *Entransia* (див. Рис. 4). Центральну філогенетичну лінію класу розділено на 7 основних суперклад (A, B, C, D, E, F, G), що відповідають роду *Interfilum* (суперклада A) та різним філогенетичним лініям *Klebsormidium* (решта суперклад, Рис. 6). Охарактеризовано морфологію різних ліній, екологію та поширення на основі вивчення молекулярно-філогенетичного різноманіття *Klebsormidium* у біокірочках Тірольських Альп (Австрія і Італія, досліджено 40 штамів) та лісів і лук Центральної Європи (Німеччина, досліджено 75 штамів). Зокрема показано, що представники суперклади E розвиваються переважно у біокірочках вологих та затінених місцезростань лісів, тоді як штами суперклад B, C, D і F типові для біокірочок відкритих та освітлених місць – лук і альпійських високогір'я.



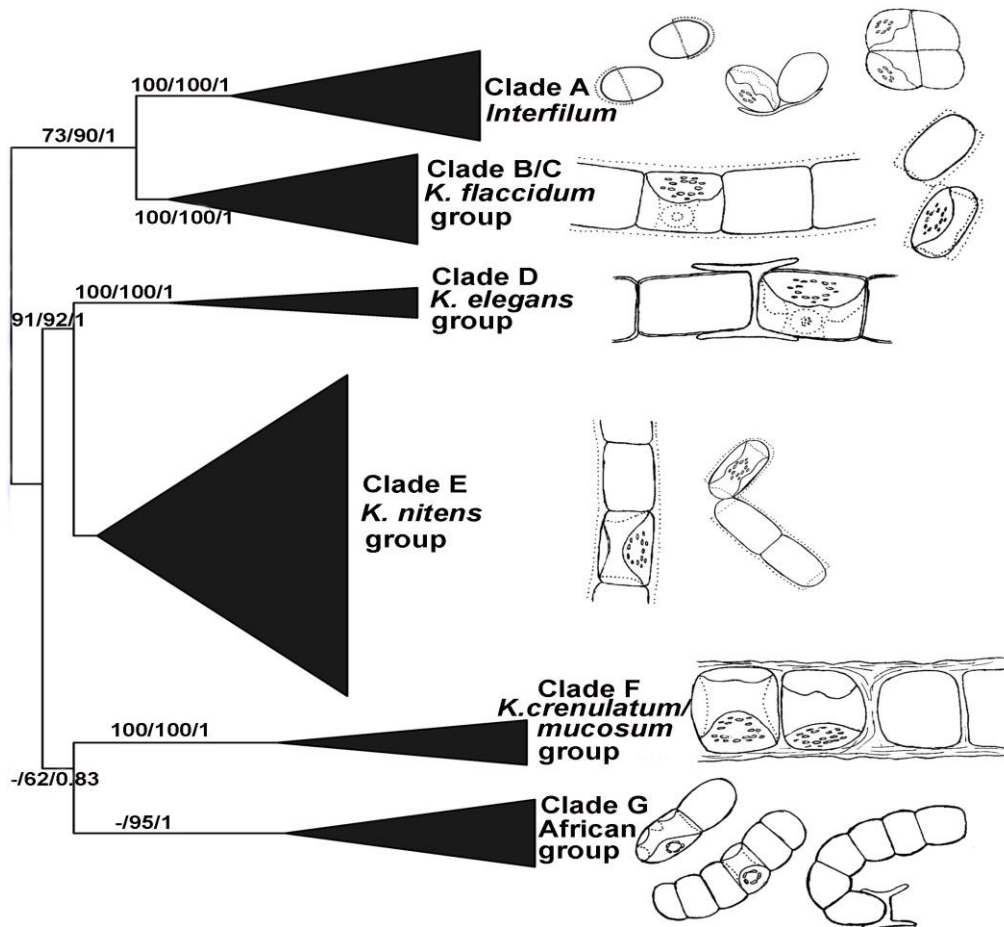


**Рис. 5.** Схеми клітинного ділення *Klebsormidium* і *Interfilum* (А) та різних шляхів трансформації материнської клітинної оболонки обох таксонів, що веде до формування різних морфотипів (Б). А: а – ділення циліндричних клітин *Klebsormidium* в одній площині з формуванням однорядної нитки; б – ділення майже ізодіаметричних клітин *Interfilum* в різних площинах з формуванням пакету; в – ділення деформованої клітини *Klebsormidium* в кількох площинах з формуванням дворядної та пакетоподібної частини нитки. Стрілка вказує місце формування поперечної клітинної стінки та площину ділення. Б: а – збереження материнської оболонки та ділення циліндричних клітин у одній площині; б – ослизнення чи розрив материнської оболонки; в – збереження материнської оболонки, майже сферичні клітини діляться у кількох площинах; г – формування поодиноких клітин, зв'язаних ниткоподібними залишками материнських клітинних оболонок; д – формування поодиноких клітин з шапінко- та кільцеподібними структурами; е – ослизнення материнської оболонки та формування поодиноких клітин з шапінкоподібними залишками оболонок; ж – формування пакетів та розгалужених ниток; з – збереження материнської оболонки, формування міцних однорядних ниток; и – формування Н-подібних фрагментів; і – часткове ослизнення материнської оболонки; й – формування коротких ниточок, діад та поодиноких клітин; к – випадковий поділ у кількох площинах, формування пакетоподібних структур та дворядних частин нитки. Головки стрілок вказують місця розриву материнської оболонки.

Проведено таксономічну ревізію центрального роду класу *Klebsormidiophyceae* (Streptophyta) – *Klebsormidium*. Запропоновано штами, що можуть слугувати референтними (епітипіфікацію) для 8 відомих видів: *K. flaccidum*, *K. crenulatum*, *K. subtile*, *K. nitens*, *K. dissectum*, *K. fluitans*, *K. mucosum*, *K. elegans*.

Відкрито нову філогенетичну лінію в межах *Klebsormidium* (суперкласу G), що містила штами своєрідної морфології, які не ототожнювалися з жодним відомим видом. Під час ревізії даної групи, з використанням інтегративного підходу, було описано 7 нових видів та 2 різновидності *Klebsormidium* (рис. 7), які були виділені з ґрунтових біокірочок незвичайних та екзотичних локалітетів (напівпустель та напіваридних чагарникових місцезростань, чагарникових локалітетів (Африканський фінбос) та сухих лісів з участю слонової пальми *Jubaea chilensis*, що розвиваються у середземноморському кліматі, лісів

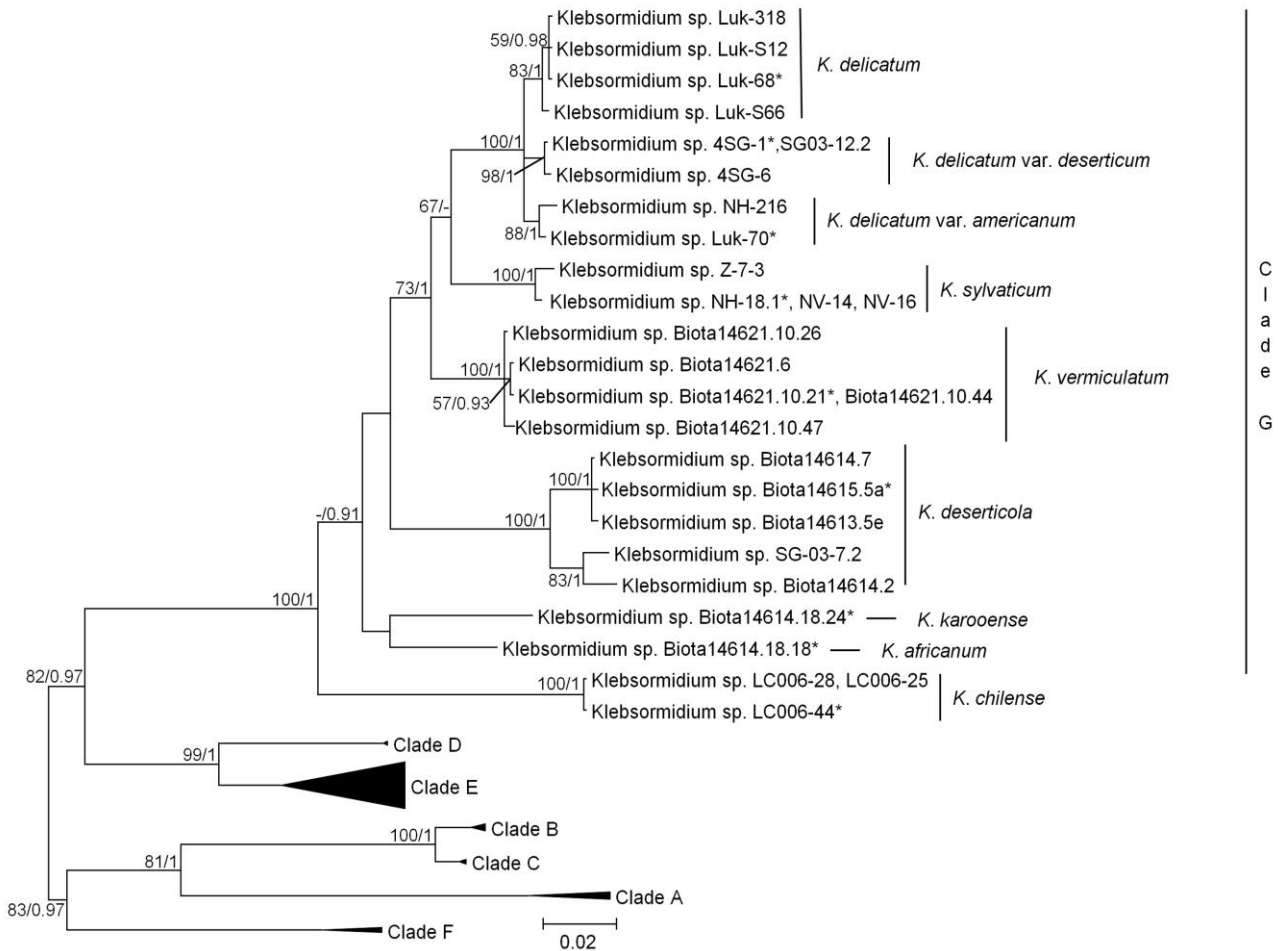
помірного клімату з участю *Araucaria araucana*, кислих ґрунтів боліт та відвалів після видобутку вугілля, приморських піщаних дюн) чотирьох континентів (Європи, Африки, Південної та Північної Америки).



**Рис. 6.** Схематичне філогенетичне дерево за результатами аналізу максимальної правдоподібності (ML) регіону ITS представників основної клади Klebsormidiophyceae – *Interfilum* та *Klebsormidium*. У правій частині рисунку наведено схематичні зображення представників кожної з суперклад. Значення підтримки бутстрепа відповідають (зліва направо) аналізу приєднання сусідів (NJ BP), максимальної правдоподібності (ML BP) та Байєсівської ймовірності (Bayesian PP).

Дана група *Klebsormidium* характеризується віддаленою філогенетичною позицією порівняно з іншими лініями цього роду та специфічною морфологією: хлоропластом, розділеним на чотири лопаті, переважно короткими, здутими клітинами в молодих культурах, компактним дрібним піреноїдом, викривленими або дезінтегрованими нитками, незвичайним подовженням клітин у старих культурах, формуванням специфічних кластероподібних та вузлуватих колоній на поверхні агаризованого середовища (Рис. 8). Ймовірно, кластероподібні скупчення нитчастих водоростей виконують захисну функцію, коли верхні шари ниток захищають ті, що лежать під ними, адже більшість видів походить з сухих або аридних регіонів.

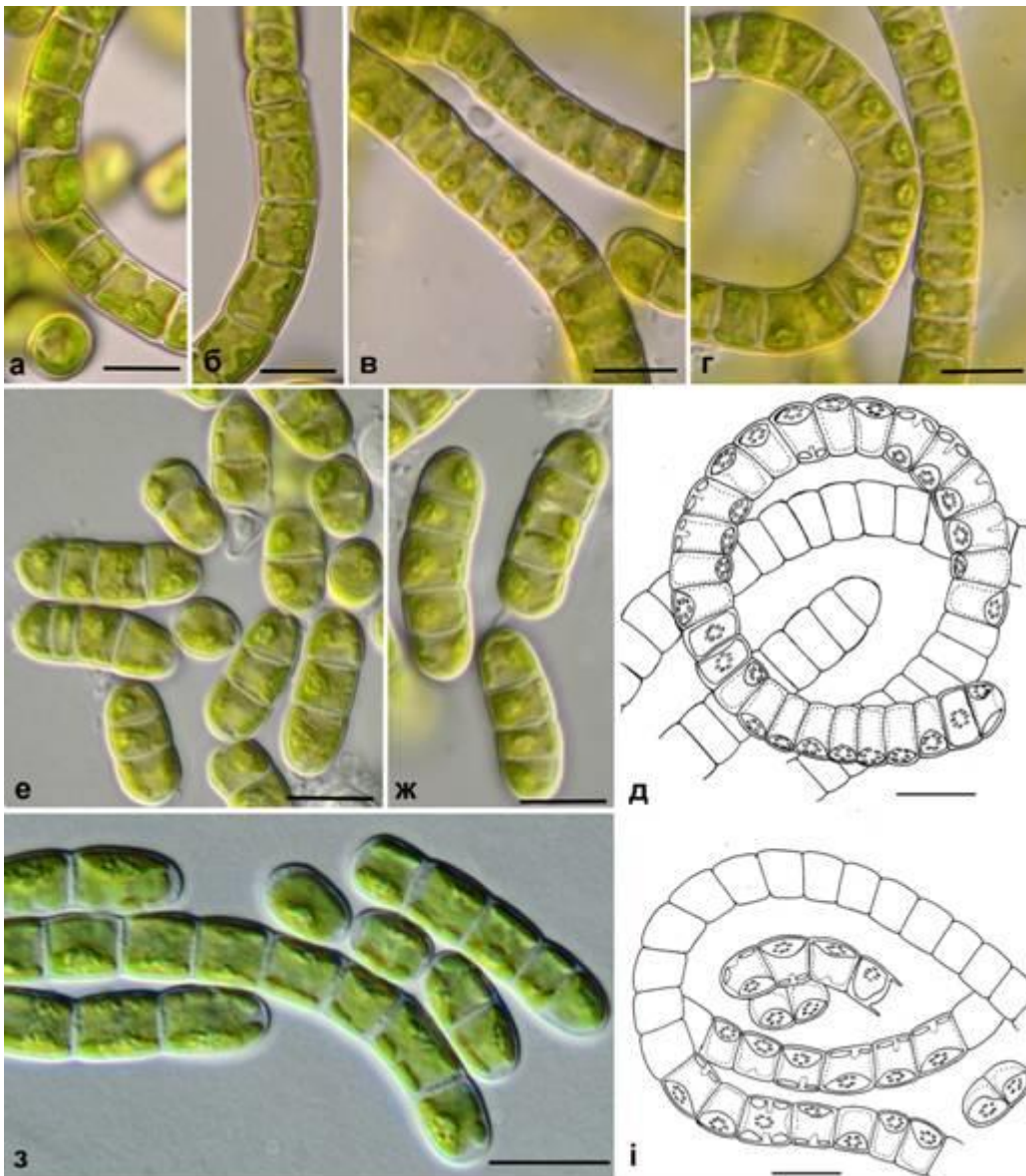




**Рис. 7.** Молекулярна філогенія *Klebsormidium* на основі об'єднаних послідовностей ITS-1,2 та *rbcL*. Філогенетичне дерево побудовано Байєсівським методом зі значеннями Байєсівської ймовірності (PP, зліва) та підтримки бутстрепа при аналізі максимальної правдоподібності (ML BP, справа). Значення BP нижче 50% та PP нижче 0.9 не наведені.

Порівняння філогенетичного різноманіття *Klebsormidium* з місцезростань Європи, Північної Америки, Азії, Африки та Південної Америки показало, що представники *Klebsormidium* з філогенетичної класи G є типовими водоростями у ґрунтових біокірочках Південної півкулі та рідкісними представниками у Північній півкулі (Рис. 9). Якщо у південноамериканських та африканських біокірочках різноманіття *Klebsormidium* з класи G досягає 55-85% від загального різноманіття групи, в біокірочках приморських дюн Німеччини та європейських місцезростаннях з низьким рН ґрунту і води (Škaloud et al., 2014) воно коливається в межах 5-10%. Крім того, ціла низка робіт стосовно філогенетичного різноманіття *Klebsormidium* у Північній півкулі взагалі не містить даних стосовно *Klebsormidium* з класи G: обростання штучних субстратів в містах Західної Європи, ґрунти лісів США, Чехії, Великобританії та Японії, біокірочки Тірольських Альп (Австрія і Італія) та лучних і лісових екосистем Німеччини (Rindi et al., 2008; Škaloud et al., 2014; Mikhailyuk et al., 2015; Rušánek et al., 2015; Glaser et al., 2017). Це змушує переглянути уявлення

про даний рід як водорість-космополіт, для поширення якої не існує географічних бар'єрів.

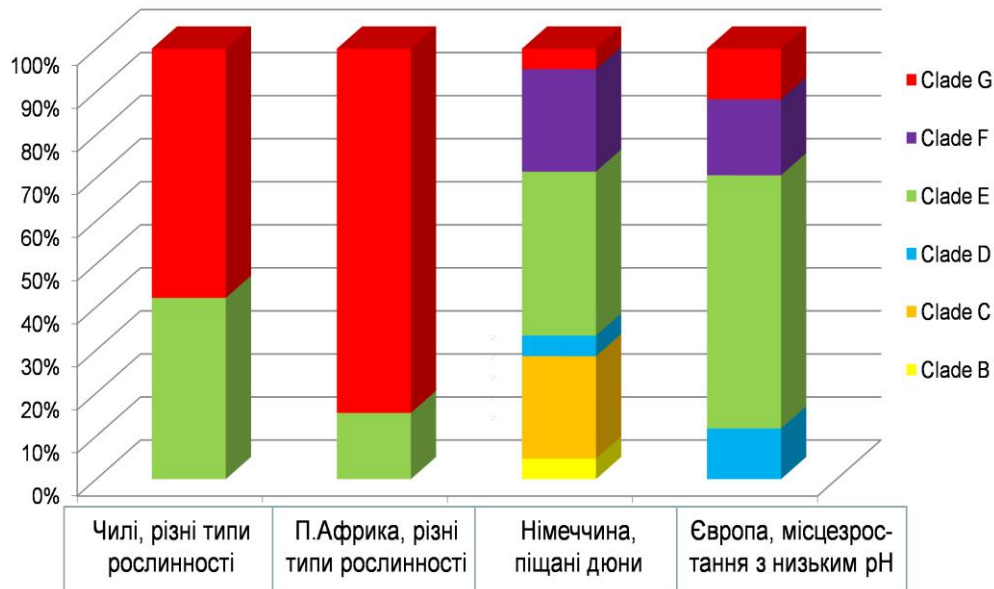


**Рис. 8.**  
Морфологія  
*Klebsormidium*  
клади G: а, б –  
*K. africanum*;  
в–д –*K.*  
*karooense*;  
е, ж – *K.*  
*vermiculatum*;  
з – *K. chilense*;  
і – *K.*  
*deserticola*.  
Шкала: 10 μm

Проведено таксономічну ревізію рідкісного роду *Hormidiella* на основі інтегративного підходу і здійснено епітипіфікацію та емендацію типового виду роду (*H. parvula*). Виявлено нову філогенетичну лінію серед стрептофітових водоростей, описану як рід *Streptofilum* Mikhailiuk & Lukešová (з єдиним видом *S. capillatum* Mikhailiuk & Lukešová, див. Рис. 4). Попри тривіальну морфологію, за якою ця водорість нагадує дрібноклітинний штам роду *Interfilum*, дослідження ультратонкої структури клітин цього представника виявило унікальний клітинний покрив. Він складається з утворів своєрідної волоскоподібної будови, при цьому клітинна оболонка відсутня (Рис. 10).

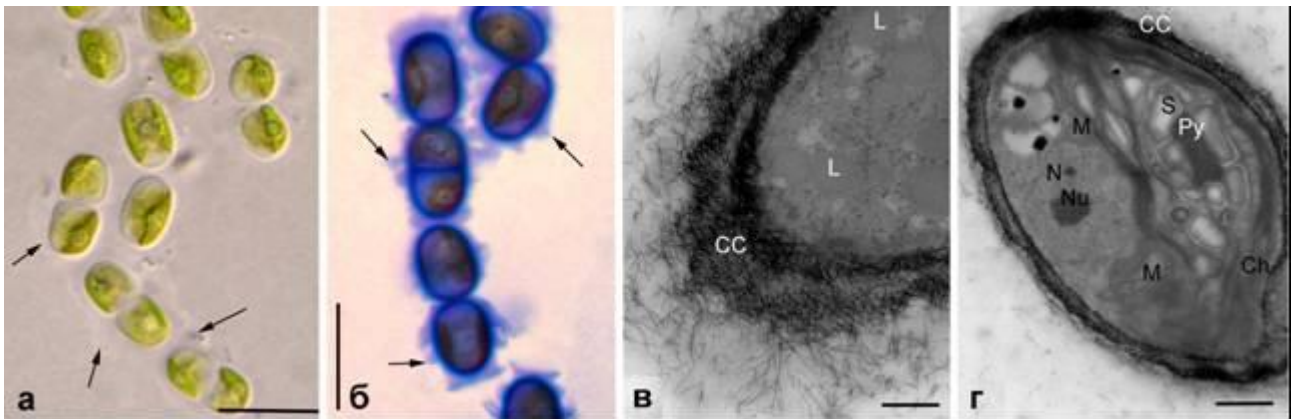
Дані утвори нагадують субмікроскопічні органічні лусочки, вони утворюються всередині клітини та транспортуються до плазмалеми, на поверхні якої відкладаються за допомогою екзоцитозу. Далі, ці утвори

формують шари на поверхні клітини та відшаровуються всередину слизистого чохла, що їх оточує, формуючи хвилясту поверхню та своєрідні шапинки. Дослідження філогенії та унікальна будова клітинного покриву показали, що ця водорість є представником групи, яка може бути описана як таксон рангу класу при належному подальшому вивченні.



**Рис. 9.** Порівняння філогенетичного різноманіття *Klebsormidium*, виявленого в різних регіонах Південної та Північної півкуль

Загалом, при вивченні представників *Klebsormidiophyceae*, з допомогою інтегративного підходу, описано 2 роди, 11 видів і 2 різновидності, здійснено емендацію та епітипіфікацію 11 видів та запропоновано 2 номенклатурні комбінації.



**Рис. 10.** Морфологія і ультраструктура *Streptofilum capillatum*: а – нитки та діади клітин, оточені слизистою обгорткою (стрілки); б – фарбування слизу метиленовим синім; в – клітинний покрив, сформований шарами волоскоподібних органічних лусочок; г – ультратонка будова клітини; L – ліпідні глобули, CC – клітинний покрив, Py – піреноїд, M – мітохондрія, Ch – хлоропласт, N – ядро, Nu – ядерце, S – крохмальна гранула. Шкала: а, б – 10  $\mu\text{m}$ , в, г – 0.5  $\mu\text{m}$

## Водорості і ціанобактерії біологічних ґрунтових кірочок, цікаві з флористико-таксономічної точки зору

Дослідження видового складу водоростей та ціанобактерій ґрунтових біокірочок, як недостатньо вивченого явища природи, виявило значне різноманіття цікавих, рідкісних представників та таких, що не ототожнюються з жодним відомим таксоном. Серед 300 виділених штамів, деякі були поглиблено вивчені з огляду їх морфолого-культуральних особливостей, філогенії та ультратонких ознак. Серед зелених і жовтозелених водоростей це було зроблено для родів *Tetradesmus*, *Heterochlamydomonas*, *Actinochloris* (Chlorophyceae, Chlorophyta), *Parietochloris*, *Xerochlorella*, *Eremochloris* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta), *Xanthonema*, *Pleurochloris*, *Heterococcus* (Xanthophyceae, Ochrophyta). На основі цього, описано 2 види, здійснено емендацію та епітипіфікацію 4 видів і запропоновано 3 номенклатурні комбінації.

Новий вид роду *Parietochloris* – *P. ovoidea* Mikhailyuk & Demchenko, був описаний з місцезростань, пов'язаних з відслоненнями гранітів України, на основі класичного культурально-морфологічного підходу. Пізніше цей представник був виявлений нами також у чорноморських біокірочках. Молекулярно-філогенетичний аналіз автентичного штаму цього таксону, проведений чеськими колегами, довів його відокремленість як виду та приналежність до роду *Lobosphaera*, до якого було перенесено частину видів *Parietochloris* та *Myrmecia* (Neustupa et al., 2011). *P. ovoidea* характеризується клітинами яйцевидної форми та дволопатеvim хлоропластом, додатково розсіченим на дрібні численні лопатинки.

Представник *Tetradesmus* був широко поширений у біокірочках балтійських та чорноморських дюн і попередньо визначений як тривіальний вид *T. obliquus* (= *Acutodesmus obliquus*). Подальше вивчення штамів цієї водорості з використанням інтегративного підходу дозволило описати новий для науки вид – *Tetradesmus arenicola* Mikhailyuk & P. Tsarenko. У накопичувальній культурі водорість утворювала скручені 4-клітинні ценобії, які при подальшому культивуванні часто розпадалися на окремі клітини (Рис. 11 и, й).

Штам рідкісної требуксієфіцієвої водорості *Eremochloris sphaerica* (Рис. 11 з, і) було виділено з біокірочок балтійських дюн. Дана водорість була описана з піщаних пустельних ґрунтів США (Fučíková et al., 2014) і вперше виявлена після її опису на території Європи. Хоча описана вона як криптичний таксон, нами виявлено низку характерних ознак даного виду: хлоропласт, розсічений на 4–6(8) великих лопатей, що щільно вистилають внутрішню поверхню клітини, залишаючи тонкі смужки вільної поверхні між лопатями, та центральний піреноїд, вкритий кількома крохмальними гранулами. Було доповнено діагнози, запропоновано референтний штам та номенклатурну комбінацію для зелених хлорофіцієвих водоростей *Actinochloris sphaerica* і *Heterochlamydomonas callunae*, використовуючи власні та колекційні штами.

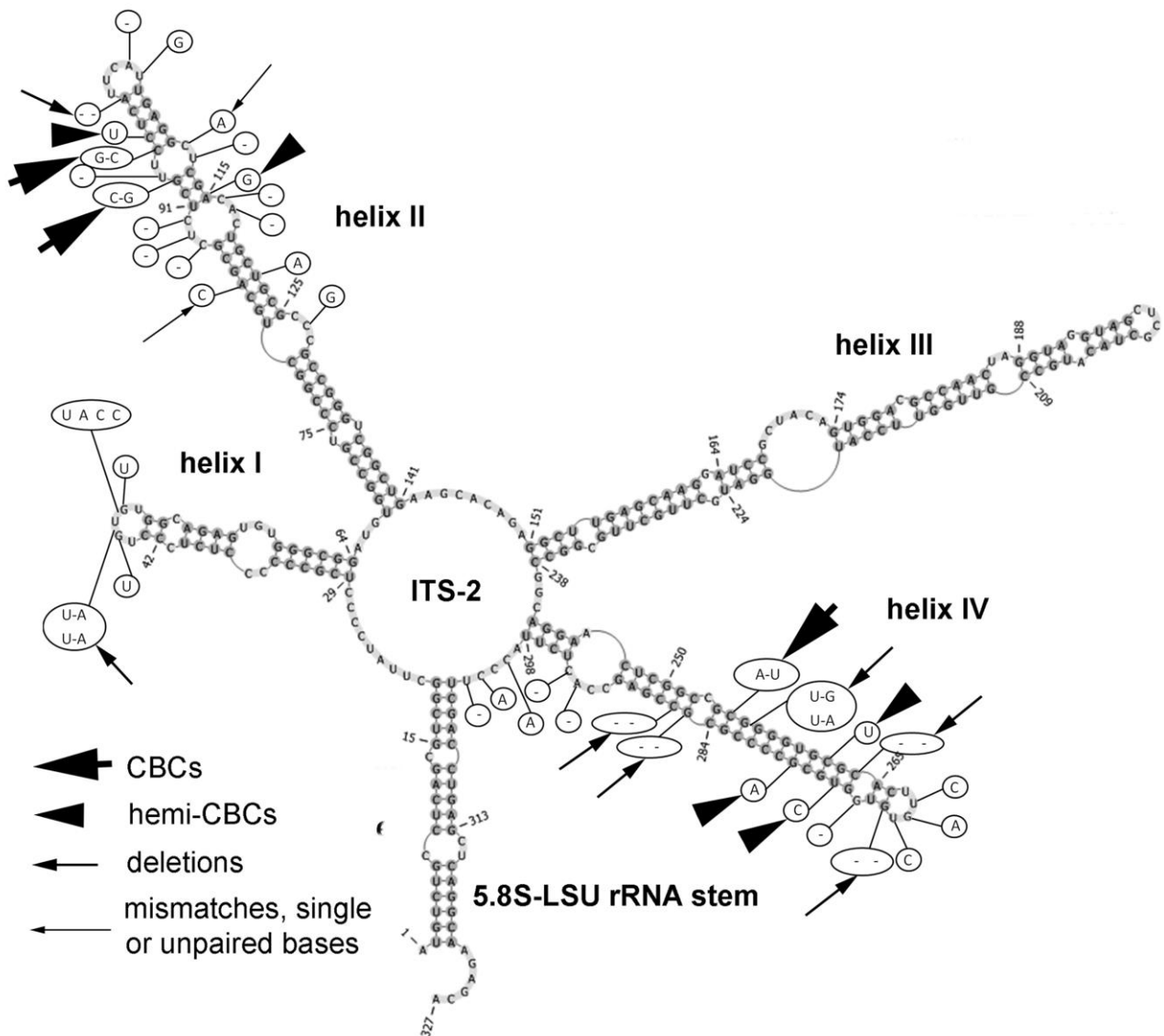




**Рис. 11.** Рідкісні та нові для науки види водоростей і ціанобактерій: а – *Oculatella ucrainica*; б – *O. kazantipica*; в, г – *Crinalium magnum*; д, е – *Streptosarcina arenaria*; ж – *Xerochlorella dichotoma* (негативне фарбування розчином туші; з, і – *Eremochloris sphaerica*; и, й – *Tetradesmus arenicola*. Шкала: 10 μm.

Вивчення кількох штамів з *Dictyosphaerium*-подібною морфологією, виділених з біокірочок дюн та лісів України і Німеччини, показало, що ці водорості є представниками нещодавно описаного роду *Xerochlorella* (Fučíková et al., 2014). Проте, штами, ідентифіковані молекулярними методами як *X. olmiae*, фактично виявилися широко поширеним наземним видом *Dictyosphaerium minutum* (= *D. chlorelloides*). Детальне вивчення морфології та ультраструктури автентичного штаму *X. olmiae* підтвердило ознаки *D. minutum*. Також було встановлено, що *D. minutum* не є генетично спорідненим з морфологічно подібним прісноводним видом *D. chlorelloides*, з яким його раніше об'єднали (Komárek & Perman, 1978) і перевели до роду *Chlorella* на

основі вивчення лише одного прісноводного штаму (Vock et al., 2011). Це дало підстави для відновлення цього цікавого виду наземної водорості та номенклатурної комбінації *Xerochlorella minuta*. Один зі штамів, що характеризувався багатоклітинними дихотомічно-розгалуженими колоніями і відокремленістю від решти штамів на генетичному рівні, було визначено як рідкісного представника *Dictyosphaerium dichotomum*, що дало підстави для номенклатурної комбінації *Xerochlorella dichotoma* (Рис. 11 ж, 12), емендації та епітипіфікації цього виду. Філогенетичне дослідження кількох штамів *X. minuta*, виділених з наземних біотопів Європи, Північної Америки та Антарктиди, дозволило зробити висновок про широке, ймовірно космополітичне, поширення даного виду.



**Рис. 12.** Порівняння вторинної структури ITS-2 видів *Xerochlorella*. Структура *X. dichotoma* (штам Hg-2-3) представлена з відмінностями щодо *X. minuta* (штам UTEX В 2993). Варіабельні нуклеотиди або їх пари показані в кружечках.

Вперше досліджено з використанням інтегративного підходу, штами *Xanthophyceae* (*Ochrophyta*), ізольовані з прибережних дюн України та

Німеччини. До них було застосовано хлоропластні генетичні маркери – ген *rbcL* та його спейсер *psbA/rbcL*. Це дозволило виявити та детально дослідити рідкісних представників – *Pleurochloris meiringensis* та *Heterococcus leptosiroides*.

Досліджено штами рідкісних та цікавих у флористико-таксономічному сенсі ціанобактерій з погляду сучасних підходів щодо їхньої таксономії, яка нині стрімко розвивається. Проаналізовано роди *Crinalium* (Oscillatoriales), *Oculatella*, *Timaviella*, *Nodosilinea* (Synecococcales), *Cyanocohniella*, *Roholtiella* (Nostocales), *Aliterella* (Chroococciopsidales). Загалом, описано 5 видів, проведено емендацію, епітипіфікацію та запропоновано номенклатурну комбінацію.

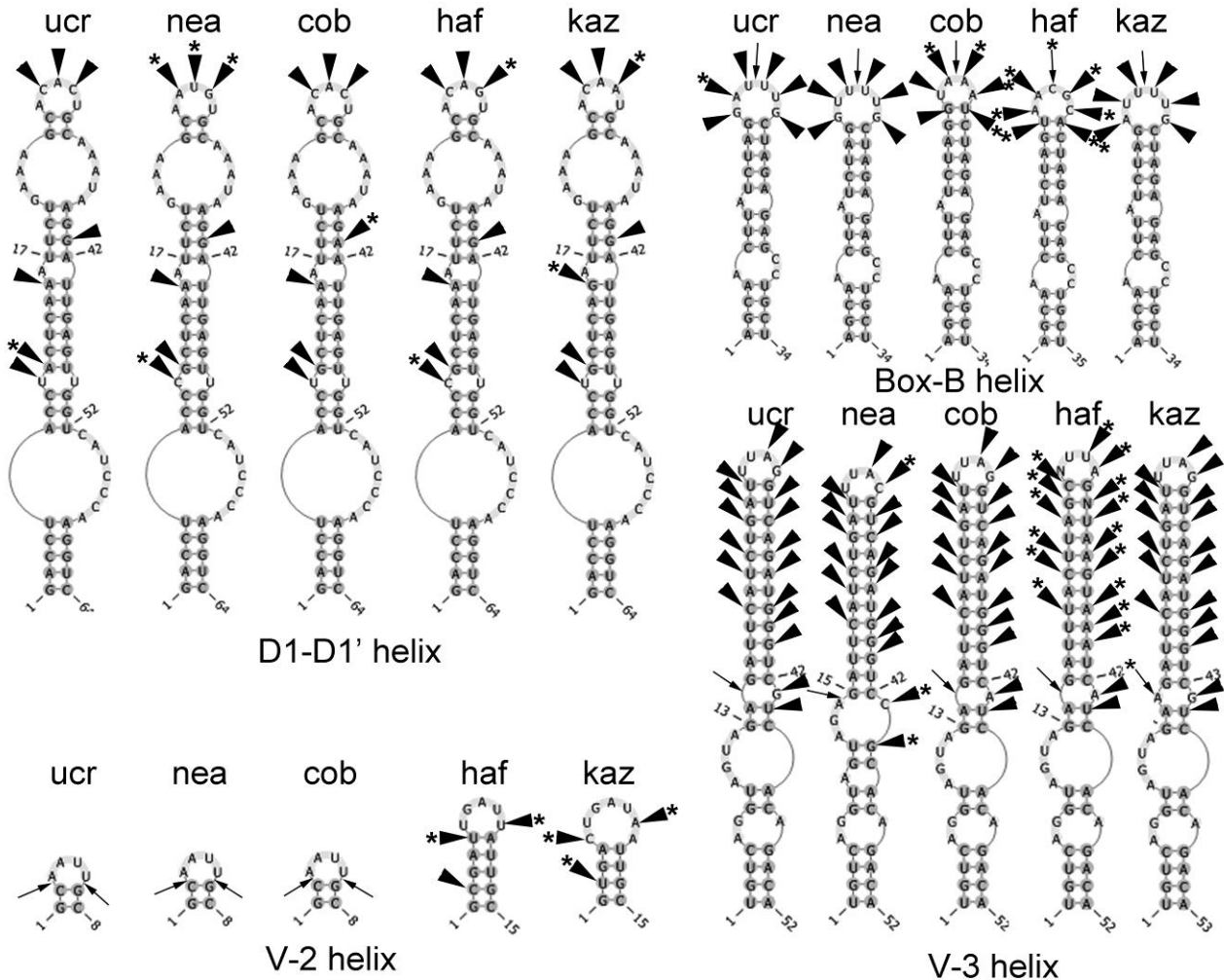
Вивчення біокірочок мису Казантип дозволило описати два нових види цікавого гомоцитного роду *Oculatella* (*O. ucrainica* та *O. kazantipica*, Рис. 11 а, б, 13), що виявився новим для флори України. Дані ціанобактерії характеризуються цікавим пігментним утвором у термінальних клітинах, який є світлочутливим і, таким чином, являє собою прообраз стигми евкаріотичних водоростей. Третій вид даного роду (*O. crustae-formantes*) було описано з біокірочок арктичного острова Свальбард. Ще два нових види одноклітинних та багатоклітинних гетероцитних представників (*Aliterella chasmolithica* та *Cyanocohniella crotaloides* P. Jung, Mikhailyuk, Emrich, Dultz et Büdel) було описано з біокірочок пустелі Атакама (Чилі) та піщаних приморських екосистем Європи (Нідерланди).

З біокірочок балтійських дюн виділено рідкісну ціанобактерію з морфологічно унікальної родини *Nomontiellaceae* (Oscillatoriales), що характеризується широкими сплещеними трихомами – *Crinalium magnum* (Рис. 11 в, г). Детальне вивчення морфології та ультраструктури цього представника дозволили провести його емендацію та епітипіфікацію. За допомогою інтегративного підходу було досліджено рідкісні та нові для флори України ностокальні – *Roholtiella edaphica*, та сінехококальні ціанобактерії – *Nodosilinea epilithica* і *Timaviella edaphica*, виявлені у ґрунтових біокірочках чорноморських та азовських дюн. Останній представник виявився тотожним відомому морфологічному виду *Plectonema edaphicum*, поширеному у наземних місцезростаннях України, у зв'язку з чим було запропоновано нову номенклатурну комбінацію *Timaviella edaphica*.

Загалом, у культурі досліджено близько 100 штамів рідкісних та цікавих з флористико-таксономічної точки зору зелених, жовтозелених водоростей та ціанобактерій. Серед них 15 представників є новими для флори України видами з родів *Klebsormidium*, *Interfilum*, *Streptosarcina*, *Bracteacoccus*, *Pleurastrosarcina*, *Pseudomuriella*, *Pleurochloris*, *Nodosilinea*, *Oculatella*, *Timaviella*, *Roholtiella*.

Найцікавішою серед цих знахідок є требуксієфіцієва водорість *Pleurastrosarcina terriformae* – новий рід і вид для флори України, виявлений з чорноморських дюн. Водорість має пакетоподібну морфологію і попередньо була визначена як вид роду *Apatococcus*. Молекулярно-філогенетичний аналіз

за геном 18S рРНК показав близьку спорідненість штаму з рідкісним родом *Pleurostrosarcina* та дозволив визначити наш штам як нещодавно описаний *P. terriformae*. Види даного роду є рідкісними представниками, типовими для аридних наземних місцезростань. *P. terriformae* було знайдено в біокірочках пустель Чилі (Південна Америка), а також у ґрунті прибережної зони в Хорватії (Darienko et al., 2019). Наша знахідка цього виду підтверджує аридний характер місцезростання на чорноморських дюнах, а також, хоча і рідкісне трапляння, проте широке світове поширення видів даного роду.



**Рис. 13.** Вторинна структура основних інформативних геліксів регіону 16S-23S ITS описаних нових видів (*Oculatella ucrainica* (ucr) і *O. kazantipica* (kaz)) та порівняння з найближчими відомими видами *Oculatella* (*O. neakameniensis* (nea), *O. coburnii* (cob) і *O. hafneriensis* (haf)). Варіабельні нуклеотиди показані за допомогою головок стрілок, місця вставок/випадіннь нуклеотидів виділені стрілками, унікальні нуклеотиди вказані зірочками.

## ВИСНОВКИ

Отримані у процесі дослідження результати поповнили відомості щодо видового різноманіття водоростей та ціанобактерій біокірочок недостатньо вивчених та різноманітних за кліматичними і екологічними умовами регіонів світу. Застосування інтегративного підходу до вивчення біорізноманіття



дозволило отримати достовірні дані щодо поширення окремих таксонів у біокірочках, їх екологічної причетності, виявити рідкісні види та описати нових представників, провести таксономічні ревізії недостатньо вивчених груп водоростей і ціанобактерій.

Ці результати дають підстави сформулювати наступні висновки.

1. Загалом, у біокірочках окремих регіонів та екосистем, виявлено 313 видів водоростей і ціанобактерій (Chlorophyta – 160 видів, Streptophyta – 30, Ochrophyta – 48 (Xanthophyceae – 26, Eustigmatophyceae – 4 та Bacillariophyceae – 18), Cyanobacteria – 75): на балтійських дюнах – 86 видів, чорноморських дюнах – 60, приморських екосистемах Азовського моря – 54, у лісах Німеччини – 52, штучних гіпергалінних екосистемах Німеччини – 30, у пустелях, напівпустелях та лісах Чилі – 86, тундрових екосистемах Свальбарду та Антарктичних островів – 82 і 49 видів відповідно.
2. В ході дослідження було описано 2 роди – *Streptosarcina* і *Streptofilum* (Streptophyta), 18 видів і 2 різновидності зелених водоростей та ціанобактерій (з родів *Parietochloris*, *Tetradesmus* (Chlorophyta), *Klebsormidium*, *Interfilum*, *Streptosarcina*, *Streptofilum* (Streptophyta), *Aliterella*, *Oculatella*, *Cyanocohniella* (Cyanobacteria)), здійснено емендацію та епітїпіфікацію 16 видів (*Actinochloris*, *Eremochloris*, *Xerochlorella* (Chlorophyta), *Klebsormidium*, *Interfilum*, *Hormidiella* (Streptophyta), *Crinalium* (Cyanobacteria)) та запропоновано 6 номенклатурних комбінацій (*Heterochlamydomonas*, *Xerochlorella* (Chlorophyta), *Klebsormidium*, *Interfilum*, (Streptophyta), *Timaviella* (Cyanobacteria)). Виявлено 15 нових для флори України видів.
3. Виявлено переважання зелених водоростей при значній ролі ціанобактерій у біокірочках балтійських та чорноморських дюн, ціанобактерій – приморських екосистем Азовського моря, зелених водоростей при майже повній відсутності ціанобактерій – лісів Німеччини, зелених ульвофіцієвих водоростей, витривалих до засолення – штучних гіпергалінних екосистем Німеччини, присутність унікальних представників *Klebsormidium* – у біокірочках напівпустель та лісів Чилі, значне різноманіття жовтозелених водоростей – полярних регіонів.
4. На прикладі приморських екосистем України та Німеччини встановлено, що основними факторами, які впливають на видовий склад та структуру угруповань водоростей і ціанобактерій біокірочок дюн, є текстура піску (за гранулометричним аналізом), а також його хімічний склад (електропровідність, рН, вміст карбонатів і фосфору), крім того, кліматичні особливості регіону.
5. Застосування інтегративного підходу значно уточнює інформацію стосовно видового складу водоростей та ціанобактерій біокірочок. На прикладі балтійських дюн, показано уточнення видової ідентифікації для 15% списку, отриманого на основі морфологічних методів, та можливість

- виявлення цілої низки рідкісних і нових таксонів, попередня ідентифікація яких вказувала на звичайні види. Завдяки інтегративному підходу виявлено 18 нових філогенетичних ліній серед водоростей і ціанобактерій біокірочок гіпергалінних відвалів Німеччини.
6. На основі інтегративного підходу доведено, що рід *Interfilum* є представником Klebsormidiophyceae (Streptophyta), а також описано новий рід *Streptosarcina*. Таким чином, окреслено загальну філогенію класу, що нині включає 5 родів: *Klebsormidium*, *Interfilum*, *Hormidiella*, *Streptosarcina* та *Entransia*, а також таксони як з нитчастою сланню, так і з пакетоподібною та розгалуженою. Центральну філогенетичну лінію класу розділено на 7 основних суперклад (А, В, С, D, Е, F, G), що відповідають роду *Interfilum* (суперклада А) та різним філогенетичним лініям *Klebsormidium* (решта суперклад).
  7. Відкрита нова філогенетична лінія роду *Klebsormidium* – суперклада G, що включає переважно представників, поширених у Південній Африці та Чилі. *Klebsormidium* з суперклади G характеризуються специфічною морфологією та віддаленим філогенетичним положенням щодо інших ліній даного роду. На основі ревізії групи описано 7 нових видів та 2 різновидності, які були виділені з біокірочок чотирьох континентів (Європи, Африки, Південної та Північної Америки). Виявлено, що ці таксони є типовими водоростями у ґрунтах Південної півкулі та рідкісними представниками у Північній півкулі, що змушує переглянути уявлення про *Klebsormidium* як водорість-космополіта, для поширення якої не існує географічних бар'єрів.
  8. На основі аналізу морфологічних та ультратонких ознак особливостей ділення клітин представників класу Klebsormidiophyceae (Streptophyta) доведено, що ділення відбувається за спільним механізмом, близьким до споруляції. Формування різних морфотипів у даних водоростей залежить від особливостей закладання поперечної клітинної стінки в одній чи кількох площинах, що пов'язано з формою клітин, текстурою клітинної оболонки, механічними взаємозв'язками клітин та впливом оточуючого середовища.
  9. Виявлено нову філогенетичну лінію серед Streptophyta, що характеризується унікальним клітинним покривом (субмікроскопічні органічні лусочки своєрідної волоскоподібної будови), яку описано як рід *Streptofilum*. Враховуючи відокремлене філогенетичне положення та унікальність клітинної будови, дана лінія може претендувати на ранг нового класу серед Streptophyta.
  10. Молекулярно-філогенетичними методами показано широке, ймовірно космополітичне, поширення в межах обох півкуль видів родів *Bracteacoccus*, *Watanabea*, *Elliptochloris*, *Edaphochlorella*, *Xerochlorella*, *Pleurastrorsarcina*, *Interfilum*. З іншого боку, поширення кількох видів *Klebsormidium* з філогенетичної суперклади G, на основі наших даних, переважно відбувається в межах Південної півкулі.

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

*Основні наукові результати дисертації опубліковані у фахових виданнях, віднесених до першого і другого квартилів (Q1 і Q2), відповідно до класифікації SCImago Journal and Country Rank або Journal Citation Reports*

1. **Mikhailyuk T.**, Sluiman H., Massalski A., Mudimu O., Demchenko E., Kondratyuk S., Friedl T. (2008). New streptophyte green algae from terrestrial habitats and an assessment of the genus *Interfilum* (Klebsormidiophyceae, Streptophyta). *J. Phycol.*, 44, 1586–1603. doi:10.1111/j.1529-8817.2008.00606.x
2. Rindi F., **Mikhailyuk T.**, Sluiman H.J., Friedl T., López-Bautista J.M. (2011). Phylogenetic relationships in *Interfilum* and *Klebsormidium* (Klebsormidiophyceae, Streptophyta). *Mol. Phyl. Evol.*, 58(2), 218–231. doi:10.1016/j.ympev.2010.11.030
3. **Mikhailyuk T.**, Holzinger A., Massalski A., Karsten U. (2014). Morphology and ultrastructure of *Interfilum* and *Klebsormidium* (Klebsormidiales, Streptophyta) with special reference to cell division and thallus formation. *Eur. J. Phycol.*, 49(4), 395–412. doi:10.1080/09670262.2014.949308
4. **Mikhailyuk T.**, Glaser K., Holzinger A., Karsten U. (2015). Biodiversity of *Klebsormidium* (Streptophyta) from alpine biological soil crusts (Alps, Tyrol, Austria, and Italy). *J. Phycol.*, 51(4), 750–767. doi:10.1111/jpy.12316
5. Schulz K., **Mikhailyuk T.**, Dreßler M., Leinweber P., Karsten U. (2016). Biological soil crusts from coastal dunes at the Baltic Sea: cyanobacterial and algal biodiversity and related soil properties. *Microb. Ecol.*, 71, 178–193. doi:10.1007/s00248-015-0691-7
6. Borchhardt N., Baum C., **Mikhailyuk T.**, Karsten U. (2017). Biological Soil Crusts of Arctic Svalbard – Water Availability as Potential Controlling Factor for Microalgal Biodiversity. *Frontiers in Microbiology*, 8, Article 1485. doi:10.3389/fmicb.2017.01485
7. Borchhardt N., Schiefelbein U., Abarca N., Boy J., **Mikhailyuk T.**, Sipman H.J.M., Karsten U. (2017). Diversity of algae and lichens in biological soil crusts of Ardley and King George islands, Antarctica. *Antarctic Science*, 29(3), 229–237. doi:10.1017/S0954102016000638
8. Glaser K., Donner A., Albrecht M., **Mikhailyuk T.**, Karsten U. (2017). Habitat-specific composition of morphotypes with low genetic diversity in the green algal genus *Klebsormidium* (Streptophyta) isolated from biological soil crusts in Central European grasslands and forests. *Eur. J. Phycol.*, 52(2), 188–199. doi:10.1080/09670262.2016.1235730
9. Glaser K., Baumann K., Leinweber P., **Mikhailyuk T.**, Karsten U. (2018). Algal richness in BSCs in forests under different management intensity with some implications for P cycling. *Biogeosciences*. 15(13), 4181–4192. doi:10.5194/bg-15-4181-2018
10. **Mikhailyuk T.**, Lukešová A., Glaser K., Holzinger A., Obwegeser S., Nyporko S., Friedl T., Karsten U. (2018). New taxa of Streptophyte algae (Streptophyta) from

- terrestrial habitats revealed using an integrative approach. *Protist*, 169(3), 406–431. doi:10.1016/j.protis.2018.03.002
11. **Mikhailyuk T.**, Glaser K., Tsarenko P., Demchenko E., Karsten U. (2019). Composition of biological soil crusts from sand dunes of the Baltic Sea coast, in the context of an integrative approach to the taxonomy of microalgae and cyanobacteria. *Eur. J. Phycol.* 54(3), 263–290. doi:abs/10.1080/09670262.2018.1557257
  12. Samolov E., **Mikhailyuk T.**, Lukešová A., Glaser K., Büdel B., Karsten U. (2019). Usual alga from unusual habitats: biodiversity of *Klebsormidium* (Klebsormidiophyceae, Streptophyta) from the phylogenetic superclade G isolated from biological soil crusts. *Mol. Phyl. Evol.*, 133, 236–255. doi:org/10.1016/j.ympcv.2018.12.018
  13. Jung P., **Mikhailyuk T.**, Emrich D., Baumann K., Dultz S., Büdel B. (2020). Shifting Boundaries: ecological and geographical range extension based on three new species in the cyanobacterial genera *Aliterella*, *Cyanocohniella* and *Oculatella*. *J. Phycol.*, 56(5), 1216–1231. doi:10.1111/jpy.13025-19-170
  14. **Mikhailyuk T.**, Holzinger A., Tsarenko P., Glaser K., Demchenko E., Karsten U. (2020): *Dictyosphaerium*-like morphotype in terrestrial algae: what is *Xerochlorella* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta)? *J. Phycol.*, 56(3), 671–686. doi:10.1111/jpy.12974-19-186
  15. Rybalka N., **Mikhailyuk T.**, Darienko T., Dultz S., Blanke M., Friedl. T. (2020). Genotypic and phylogenetic diversity of new isolates of terrestrial Xanthophyceae (Stramenopiles) from maritime sandy habitats. *Phycologia*, 59(6), 506–514. doi:org/10.1080/00318884.2020.1802950

**Статті у інших виданнях, індексованих у міжнародних наукометричних базах даних**

1. **Mikhailyuk T.**, Demchenko E.M., Kondratyuk S.Ya. (2003). *Parietochloris ovoideus* sp. nov. (Trebouxiophyceae, Chlorophyta), a new aerophyte alga from Ukraine. *Algol. Stud.*, 110, 1–16.
2. **Mikhailyuk T.**, Vinogradova O.N., Glaser K., Karsten U. (2016). New Taxa for the Flora of Ukraine, in the Context of Modern Approaches to Taxonomy of Cyanoprokaryota / Cyanobacteria. *Intern. J. Algae*, 18(4), 301–320.
3. **Mikhailyuk T.**, Vinogradova O.N., Glaser K., Demchenko E., Karsten U. (2018). Diversity of Terrestrial Algae of Cape Kazantip (the Sea of Azov, Ukraine) and Some Remarks on their Phylogeny and Ecology. *Intern. J. Algae*, 20(4), 313–338.
4. Vinogradova O.N., **Mikhailyuk T.I.** (2018). On the taxonomy and nomenclature of some terrestrial taxa of *Plectonema* s.l. (Cyanophyceae). 1. The case of *Plectonema edaphicum*. *Intern. J. Algae*, 20(3), 211–224.
5. Vinogradova O.N., **Mikhailyuk T.**, Glaser K., Holzinger A., Karsten U. (2018). New species of *Oculatella* (Synechococcales, Cyanobacteria) from terrestrial habitats of Ukraine. *Укр. ботан. журн.*, 75(2), 149–159. doi:10.15407/ukrbotj74.06.509
6. **Mikhailyuk T.**, Vinogradova O.N., Holzinger A., Glaser K., Samolov E., Karsten U. (2019). New record of the rare genus *Crinalium* Crow (Oscillatoriales,

Cyanobacteria) from sand dunes of the Baltic Sea, Germany: epitypification and emendation of *Crinalium magnum* Fritsch et John based on an integrative approach. *Phytotaxa*, 400(3), 165–179. doi:org/10.11646/phytotaxa.400.3.4

7. Samolov E., Baumann K., Büdel B., Jung P., Leinweber P., **Mikhailyuk T.**, Karsten U., Glaser K. (2020). Biodiversity of algae and cyanobacteria in biological soil crusts collected along a climatic gradient in Chile using an integrative approach. *Microorganisms*, 8(7), 1047. doi:10.3390/microorganisms8071047
8. Sommer V., **Mikhailyuk T.**, Glaser K., Karsten U. (2020). Uncovering Unique Green Algae and Cyanobacteria Isolated From Biocrusts in Highly Saline Potash Tailing Pile Habitats, Using an Integrative Approach. *Microorganisms*, 8(11), 1667. doi: 10.3390/microorganisms8111667

### *Розділ у монографії*

1. **Михайлюк Т.І.**, Лукешова А., Массальський А., Фрідл Т. (2013). Молекулярна філогенія, таксономія і біологія наземних водоростей порядку Klebsormidiales (Klebsormidiophyceae, Streptophyta)). В кн.: Молекулярна філогенія і сучасна таксономія наземних спорових рослин / Відп. ред. Кондратюк С.Я. К: Наук. думка, 2013, 95–145.

### *Наукові праці, що засвідчують апробацію матеріалів дисертації*

1. **Mikhailyuk T.**, Demchenko E.M., Kondratyuk S.Ya. Algae of granitic outcrops from the left bank of Pivdennyi Bug River (Ukraine). *Biology and Taxonomy of Green Algae IV: Intern. Symposium*, Smolenice-Castl, Slovakia, June 24-28, 2002, 63.
2. **Mikhailyuk T.**, Kondratyuk S.Ya. Epiphytic algae of some lichen species. *XVII Intern. Botanical Congress*, Vienna, Austria, 17-23 July 2005, 445.
3. **Mikhailyuk T.**, Demchenko E.M., Massalski A.-K. *Massjukia* gen. nov. (Chlorophyta, Charophyceae), a new aerophytic algae from granite outcrops (Ukraine). *Algae in terrestrial ecosystems: Intern. Confer.*, Kaniv, 27-30 September 2005, 52.
4. **Mikhailyuk T.**, Sluiman H., Massalski A., Mudimu O., Demchenko E., Kondratyuk S., Friedl T. New streptophyte green algae from terrestrial habitats and an assessment of the genus *Interfilum* (Klebsormidiophyceae, Streptophyta). *Biology and Taxonomy of green algae V: Intern. Symposium*, Smolenice-castle, Slovakia, June 25-29, 2007, 46.
5. Sluiman H., **Mikhailyuk T.**, Friedl T., Beck A. Phylogenetic analysis of the 516 and 1506 group I introns of the Klebsormidiales (Klebsormidiaceae, Streptophyta). *Biology and Taxonomy of green algae V: Intern. Symposium*, Smolenice-castle, Slovakia, June 25-29, 2007, 67–68.
6. **Mikhailyuk T.**, Sluiman H.J., Rindi F., Massalski A.K., Mudimu O., Friedl T. *Interfilum* and *Klebsormidium* are closely related streptophycean algae. *Algal Culture Collections 2008*, 9-10 June 2008, Oban, UK, 22.
7. Rindi F., **Mikhailyuk T.**, Sluiman H.J., Friedl T., Lopes-Bautista J.M. Shedding light into green chaos: a reassessment of the classification of the Klebsormidiales

- (Klebsormidiophyceae, Streptophyta) based on molecular evidence. *9-th Intern. Phycol. Congress, Informal Workshop "Freshwater green algal systematics"*, Tokyo, Japan, 2-8 August 2009, 5.
8. **Mikhailyuk T.**, Pröschold, T., Holzinger, A., Karsten, U. Biodiversity of *Klebsormidium* from highland soil crusts (Alps, Tyrol, Austria). *Advances in modern phycology: V Intern. Confer.*, 23-25 May 2012, Kyiv, Ukraine, 374–375.
  9. **Mikhailyuk T.** Biological soil crusts from sand dunes of maritime ecosystems. *Network Meeting of the Alexander von Humboldt Foundation*. Conference Volume. 20-22 March 2013, Hannover, 183–184.
  10. **Mikhailyuk T.**, Pröschold T., Holzinger A., Karsten U. Biodiversity of *Klebsormidium* from highland soil crusts (Alps, Tyrol, Austria) *BioSyst. EU 2013. Global Systematics!*, 18-22 February 2013, Vienna, Austria, 141.
  11. **Mikhailyuk T.**, Schulz K., Karsten U. Algal and cyanobacterial component of biological soil crusts from sand dunes of the Baltic sea coast (Germany). *15-th Scien. Confer. of the section Phycology of the German Botanical Society*, 23-26 February 2014, Stralsund, Germany, 54.
  12. Glaser K., Borchhardt N., Schulz K., Baumann K., Leinweber P., **Mikhailyuk T.**, Karsten U. Linking biological soil crust diversity to ecological functions. *European Geosciences Union. General Assembly 2016*. Vienna, Austria, 17-22 April 2016. Geophysical Research Abstracts, 2016, 18. Abstract number 5790.
  13. Виноградова О.М., **Михайлюк Т.І.**, Громакова А.Б. До вивчення ціанобактеріальних кірочок крейдяних відслонень Харківської області. *XIV з'їзд Українського Ботанічного Товариства*, 25-26 квітня 2017 р.
  14. Samolov E., Glaser K., Baumann K., Leinweber P., Jung P., Büdel B., **Mikhailyuk T.**, Karsten U. Biological soil crusts in Chile along a precipitation gradient. *European Geosciences Union. General Assembly 2017*, 23–28 April 2017, Vienna, Austria, Geophysical Research Abstracts, 2017, 19, Abstract number 1368.
  15. **Mikhailyuk T.**, Lukešová A., Glaser K., Holzinger A., Obwegeser S., Nyporko S., Friedl T., Karsten U. New lineages of streptophyte algae (Streptophyta) from terrestrial habitats revealed by an integrative approach. *17-th Scien. Confer. of the Phycology Section of the German Botanical Society*, March 11–14, 2018, Berchtesgaden, Germany, 63.
  16. **Mikhailyuk T.** New and rare taxa of algae and cyanobacteria from biological soil crusts revealed using an integrative approach. *9-th Bonn Humboldt Award Winners' Forum "Frontiers in Biogeography, Ecology, Anthropology, and Evolution. Humboldt and the 'Cosmos' revisited in the 21st Century"*. 16–20 October 2019, Bonn, Germany, 305–306.
  17. **Mikhailyuk T.**, Tsarenko P., Glaser K., Holzinger A., Demchenko E., Karsten U. *Dictyosphaerium*-like morphotype in terrestrial algae: what is *Xerochlorella* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta)? *Advances in modern phycology: VI Intern. Confer.*, 15-17 May 2019, Kyiv, Ukraine, 69–70.
  18. Vynogradova O.M., **Mikhailyuk T.**, Gromakova A.B. New and interesting records of cyanobacteria in biological soil crusts from chalk outcrops of Kharkiv region

(Ukraine). *Advances in modern phycology: VI Intern. Confer.*, 15-17 May 2019, Kyiv, Ukraine, 122–123.

### АНОТАЦІЯ

**Михайлюк Т.І. Водорості та ціанобактерії біологічних ґрунтових кірочок: різноманіття, філогенія, таксономія, екологія, поширення.** – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису за сукупністю наукових статей.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.05 – Ботаніка. – Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, Київ, 2021.

Дисертаційна робота є завершеним оригінальним дослідженням, присвяченим комплексному вивченню водоростей та ціанобактерій біологічних ґрунтових кірочок окремих екосистем Європи (приморських дюн, лісів та гіпергалінних відвалів України і Німеччини), чотирьох рослинно-кліматичних зон Південної Америки (Чилі) та тундрових екосистем полярних регіонів (Свальбард і Антарктичні острови), з висвітленням їх різноманіття, філогенії, таксономії окремих груп, екології та поширення. Загалом, виявлено 313 видів. Виявлено переважання зелених водоростей при значній ролі ціанобактерій у ґрунтових кірочках балтійських та чорноморських дюн, ціанобактерій – приморських екосистем Азовського моря, зелених водоростей – лісів Німеччини, зелених ульвофіцієвих, витривалих до засолення – штучних гіпергалінних екосистем Німеччини, унікальних представників роду *Klebsormidium* – у біокірочках напівпустель та лісів Чилі, жовтозелених водоростей – полярних регіонів. Особливу увагу приділено філогенії і таксономії *Klebsormidiophyceae* (*Streptophyta*) як домінуючих представників у біокірочках помірної зони. Визначено загальну філогенію класу, центральну філогенетичну лінію розділено на 7 суперклад. Виявлено нові таксони, які урізноманітнили морфологію класу, що нині містить 5 родів та представників з нитчастою, пакетоподібною і розгалуженою сланню. Вивчення ділення клітин класу показало, що воно відбувається за механізмом, близьким до споруляції. Виявлено нову філогенетичну лінію серед *Streptophyta* з унікальним клітинним покривом. Проведено таксономічні ревізії окремих груп зелених водоростей та ціанобактерій. Описано 2 роди, 18 видів і 2 різновидності, здійснено емендацію та епітипіфікацію 16 видів, запропоновано 6 номенклатурних комбінацій. Роботу виконано із використанням класичних та сучасних молекулярно-біологічних методів, застосованих до ідентифікації водоростей і ціанобактерій.

**Ключові слова:** водорості, ціанобактерії, біологічні ґрунтові кірочки, різноманіття, молекулярна філогенія, таксономія, *Klebsormidiophyceae*, екологія, поширення

### АНОТАЦІЯ

**Михайлюк Т.И. Водоросли и цианобактерии биологических почвенных корочек: разнообразие, филогения, таксономия, экология,**

**распространение.** – Квалификационная научная работа на правах рукописи по совокупности научных статей.

Диссертация на соискание научной степени доктора биологических наук по специальности 03.00.05 – Ботаника. – Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины, Киев, 2021.

Диссертационная работа является завершенным оригинальным исследованием, посвященным комплексному изучению водорослей и цианобактерий биологических почвенных корочек отдельных экосистем Европы (приморских дюн, лесов и гипергалинных отвалов Украины и Германии), четырех растительно-климатических зон Южной Америки (Чили) и тундровых экосистем полярных регионов (Свальбард и Антарктические острова), с освещением их разнообразия, филогении, таксономии отдельных групп, экологии и распространения. В целом, выявлено 313 видов. Отмечено преобладание зеленых водорослей при значительной роли цианобактерий в почвенных корочках балтийских и черноморских дюн, цианобактерий – приморских экосистем Азовского моря, зеленых водорослей – лесов Германии, зеленых ульвофициевых, устойчивых к засолению – искусственных гипергалинных экосистем Германии, уникальных представителей рода *Klebsormidium* – в биокорочках полупустынь и лесов Чили, желтозеленых водорослей – полярных регионов. Особенное внимание уделено филогении и таксономии *Klebsormidiophyceae* (Streptophyta) как доминирующих представителей в биокорочках умеренной зоны. Определена общую филогению класса, центральную филогенетическую линию разделено на 7 суперклад. Выявлены новые таксоны, которые сделали морфологию класса более разнообразной; сейчас он включает 5 родов и представителей с нитчатой, пакетобразной и разветвленной сланью. Изучение деления клеток класса показало, что оно происходит согласно механизму, близкому к споруляции. Выявлено новую филогенетическую линию среди Streptophyta с уникальным клеточным покровом. Проведено таксономические ревизии отдельных групп зеленых водорослей и цианобактерий. Описано 2 рода, 18 видов и 2 разновидности, произведено эмендацию и эпитипификацию 16 видов, предложено 6 номенклатурных комбинаций. Работу выполнено с использованием классических и современных молекулярно-биологических методов, примененных при идентификации водорослей и цианобактерий.

**Ключевые слова:** водоросли, цианобактерии, биологические почвенные корочки, разнообразие, молекулярная филогения, таксономия, *Klebsormidiophyceae*, экология, распространение

## SUMMARY

*Mikhailyuk T.I.* Algae and cyanobacteria of biological soil crusts: diversity, phylogeny, taxonomy, ecology, distribution. – Qualifying scientific work, collection of scientific manuscripts.



The thesis for the Degree of Doctor of Biological Sciences for speciality 03.00.05 – «Botany». M.G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of Ukraine. Kyiv, 2021.

The thesis represents complete original investigation devoted complex study of algae and cyanobacteria from biological soil crusts of some ecosystems of Europe (maritime sand dunes, forests and hypersaline tailing piles of Ukraine and Germany), four vegetation and climatic zones of South America (Chile) and tundra ecosystems of polar regions (Svalbard and Antarctica islands). The investigation was focused on biodiversity, phylogeny and taxonomy of some groups as well as ecological peculiarities and distribution. The main attention was paid to the phylogeny and taxonomy of Klebsormidiophyceae (Streptophyta) as dominating representatives in biocrusts of temperate climatic zone. The thesis was completed using classical and modern molecular-phylogenetic methods (integrative approach) applied for identification of algae and cyanobacteria.

Totally, 313 species of algae and cyanobacteria were found in biocrusts of some regions and ecosystems (Chlorophyta – 160 species, Streptophyta – 30, Ochrophyta – 48 (Xanthophyceae – 26, Eustigmatophyceae – 4 and Bacillariophyceae – 18), Cyanobacteria – 75). Predominance of green algae together with considerable role of cyanobacteria was indicated in biocrusts of sand dunes of Baltic and Black sea coasts; cyanobacteria was the most abandoned in biocrusts of coastal ecosystems of the Sea of Azov; green algae were leading group together with almost complete absence of cyanobacteria in biocrusts of German forests; Ulvophyceae (Chlorophyta) tolerant to saline environment were abandoned in artificial hypersaline ecosystems of Germany; unique taxa of *Klebsormidium* were dominating in biocrusts of semi-deserts and forests of Chile; Xanthophyceae were numerous and abandoned in polar regions.

Soil biocrusts of coastal sand dunes of Europe were characterized by predominance of green algae and considerable abundance of cyanobacteria. The role of some hydrophilous taxa was higher in humid and cool conditions of Baltic islands, whereas more halophilic species were found in biocrusts of Black sea coast. Biocrusts of maritime ecosystems of cape Kazantip, which developed on the conquina beach and clay screes, had specific composition and characterized by high diversity and prevailing role of cyanobacteria. Sand texture (granulometric composition) and sand chemical peculiarities (mainly electrical conductivity, pH, carbonate content and the total phosphorus content) as well as climate peculiarities of the respective region are the main factors influenced the cyanobacterial and algal community structure of biocrusts in coastal dunes. Using an integrative approach allows more precise identification for some dominating and rare species (about 15% of the composition) of biocrust algae and cyanobacteria from Baltic dunes.

Investigation of biocrusts from forests of central Germany with domination of green algae showed that the level of forest management essentially influenced algal species composition which starts to be more diverse perhaps because of disturbing of soil and plant cover. High diversity of Ulvophyceae (Chlorophyta) was registered in biocrusts of potash tailing piles from central Germany. The most part of green algae

and cyanobacteria from these artificial hypersaline ecosystems are known as salty-tolerant representatives, among them 18 new unique phylogenetic lineages were found. Among four investigated vegetation and climatic zones of Chile, biocrusts of the Atakama Desert (arid climate) is characterized by the lowest species richness and composed with unicellular algae and cyanobacteria. The biocrusts of other localities (the most diverse is in the dry forests, Mediterranean climate) formed by unique *Klebsormidium* species described as new for science taxa. The biocrusts of Polar Regions had diverse species composition of eukaryotic algae represented by low abundance and considerable diversity of Xanthophyceae.

It was confirmed based on an integrative approach that *Interfilum* is a representative of Klebsormidiophyceae (Streptophyta); new genus *Streptosarcina* was described as well. Thus, general phylogeny of the class which includes algae dominating in the biocrusts of temperate zone was determined. Now the class contains 5 genera: *Klebsormidium*, *Interfilum*, *Hormidiella*, *Streptosarcina* and *Entransia*, among them taxa with filamentous as well as packet-like and branched thalli are present. The central phylogenetic lineage of the class was divided on 7 main superclades. The reference strains were proposed for 8 *Klebsormidium* species; 7 new species and 2 varieties of *Klebsormidium* from phylogenetic clade G isolated from biocrusts of Europe, Africa, North and South America were described. Prevalent development of superclade G *Klebsormidium* in terrestrial ecosystems of South hemisphere forces to revision of the genus concept as alga cosmopolitan in distribution. The study of the cell division of Klebsormidiophyceae showed that vegetative cells divide by mechanism close to sporulation. Formation of different morphotypes depends on shape of cells, texture of cell walls, mechanical interactions between cells and the influence of environmental conditions. New phylogenetic lineage among Streptophyta (genus *Streptofilum*) with unique cell coverage (submicroscopic organic scales of specific piliform shape) was discovered.

Investigation of the strains of rare and interesting algae and cyanobacteria revealed to describe 7 new species (from genera *Parietochloris*, *Tetradasmus*, *Aliterella*, *Oculatella*, *Cyanocohniella*), provide emendation and epitypification of 5 species (*Crinalium*, *Actinochloris*, *Eremochloris*, *Xerochlorella*) and propose 4 taxonomical combinations (*Timaviella*, *Heterochlamydomonas*, *Xerochlorella*).

Investigation of the biocrust biodiversity using molecular phylogenetic methods showed wide, possibly cosmopolitan, distribution within both hemispheres some species of green algae: *Bracteacoccus*, *Watanabea*, *Elliptochloris*, *Edaphochlorella*, *Xerochlorella*, *Pleurastrosarcina*, *Interfilum*. While distribution of some species of clade G *Klebsormidium* is realized mostly within South hemisphere.

Totally 2 new genera, 18 species and 2 varieties of algae and cyanobacteria were described, emendation and epitypification were provided for 16 species and 6 taxonomical combinations were proposed.

**Key words:** algae, cyanobacteria, biological soil crusts, diversity, molecular phylogeny, taxonomy, Klebsormidiophyceae, ecology, distribution