

УДК 581.524.12:561.232

## ВЗАИМНОЕ ВЛИЯНИЕ ЦИАНОБАКТЕРИЙ И ЗЕЛЕННЫХ ВОДОРОСЛЕЙ ПРИ СОВМЕСТНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ НА ПРИМЕРЕ *Dolichospermum spiroides*, *Planktothrix agardhii* И *Chlorella vulgaris*

© 2024 г. Л. А. Гайсина<sup>a, b</sup>, Е. О. Новикова<sup>a</sup>, Н. Б. Гибадуллина<sup>a</sup>, А. А. Падалка<sup>c</sup>,  
Т. Е. Павлюк<sup>c, \*</sup>

<sup>a</sup>Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы, Уфа, Россия

<sup>b</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии,  
Московская обл., Одинцовский р-н, пос. Большие Вяземы, Россия

<sup>c</sup>Российский научно-исследовательский институт комплексного использования и охраны водных ресурсов,  
Екатеринбург, Россия

\*e-mail: T.Pavluk@mail.ru

Поступила в редакцию 05.09.2023 г.

После доработки 15.01.2024 г.

Принята к публикации 05.04.2024 г.

Избыточное поступление биогенных элементов в водные объекты приводит к активному развитию планктонных водорослей, возбудителей “цветения” воды, к которым чаще всего относятся цианобактерии. Исследования по схеме *in vitro* позволили проверить рабочую гипотезу об отсутствии ингибирующего воздействия штамма *Chlorella vulgaris* Beijerinck BIN на культуры цианобактерий CALU 799 *Dolichospermum spiroides* (Klebban) Wacklin, L. Hoffmann & Komárek и CALU 1749 *Planktothrix agardhii* (Gomont) Anagnostidis & Komárek в концентрациях 1:1, 10:1, 100:1, 1000:1 (цианобактерия: хлорелла). В серии опытов не установлено влияние культуры *Chlorella vulgaris* BIN на жизнеспособность клеток исследованных цианобактерий. При высоких показателях плотности цианобактерий в концентрациях 10:1, 100:1, 1000:1 число мертвых клеток хлореллы увеличивалось. Токсическое воздействие было более выражено у штамма CALU 799 *D. spiroides* по сравнению со штаммом CALU 1749 *Planktothrix agardhii*.

**Ключевые слова:** цианобактерии, “цветение” воды, *Chlorella vulgaris*, аллелопатия, сокультивирование водорослей

**DOI:** 10.31857/S0320965224060048, **EDN:** WYQNUU

### ВВЕДЕНИЕ

Глобальные климатические изменения и повышение эвтрофикации водоемов во всем мире приводят к массовому сезонному развитию планктонных водорослей в водных объектах, называемое “цветением” воды. Явление “цветения” обычно определяется как резкое увеличение биомассы водорослей в течение короткого периода времени, сопровождаемое снижением видового разнообразия фитопланктона. Снижение качества воды, нежелательная трансформация трофических связей и общая деградация водных экосистем — это неполный перечень последствий такого явления. Деструктивные процессы в экосистеме проявляются в виде летних заморозов рыб, массовой гибели бентосных, планктонных и нейстонных животных, а также водоплавающих птиц и млекопитающих (Никаноров и др., 2010; Rollwagen-Bollens et al., 2018).

Вследствие “цветения” воды изменяется ее окраска, появляются специфический вкус и запах, снижается прозрачность. Пиковое “цветение” воды в июле–августе приводит к дефициту растворенного в воде кислорода (<5 мг/л), особенно в жаркие маловодные годы. При этом, локально в штилевых условиях наблюдается противоположный процесс — перенасыщение кислородом тонкого поверхностного слоя воды (1–3 см), в котором концентрация растворенного кислорода достигает 150–200% (Селезнева и др., 2022). В целом “цветение” воды создает существенные помехи в питьевом и техническом водоснабжении, нормальной работе тепловых и гидроэлектростанций, снижает рекреационную привлекательность водоемов.

Цианобактериальное “цветение” может привести к серьезным последствиям для человека, диких и домашних животных, водоплавающих птиц и для биоты в целом (Harmful..., 2006; Белых

и др., 2013; Merel et al., 2013), в связи с их способностью продуцировать широкий спектр токсичных метаболитов: гепатотоксинов (микроцистинов, нодуларина, а также цилиндропермопсина), нейротоксинов (анатоксинов и сакситоксинов), дерматотоксинов и эндотоксинов (липополисахаридов и др.) (Волошко, Пиневиц, 2014).

Контролировать массовое развитие цианобактерий можно несколькими способами. В последнее время наряду с физическими и химическими методами борьбы с “цветением” все шире используются и биологические. Многие водные организмы изучали на предмет потенциальной возможности ограничивать рост цианобактерий. В качестве таких объектов биологического контроля в разных исследованиях были проанализированы вирусы, бактерии, грибы, простейшие, моллюски, рыбы (Jeppesen et al., 1990; Колмаков, 2006; Middelboe et al., 2008; Dai et al., 2018). Механизм работы потенциальных агентов биоконтроля варьирует от высокоспецифичного паразитизма и хищничества до неспецифических форм действия – высвобождения метаболитов, подавляющих цианобактериальный рост, фильтрации, конкуренции за ресурсы.

Проблема “цветения” воды цианобактериями уже много десятилетий актуальна для разнотипных водоемов России. Например, в течение последних 10–15 лет цианобактерии составляли до 100% общей биомассы фитопланктона Цимлянского водохранилища (Никаноров и др., 2010; Глушенко, 2019), при этом в фитопланктоне нижнего течения р. Дона и в Таганрогском заливе в 2017 г. было выявлено два летних пика, сформированных исключительно цианобактериями, а не диатомовыми и зелеными водорослями, как отмечали ранее (Корнева, Глушенко, 2020).

В связи с этим в ряде водохранилищ России была проведена апробация биологического метода борьбы с массовым развитием цианобактерий путем вселения в водоем разных штаммов зеленой микроводоросли *Chlorella vulgaris* Beijerinck (Калайда, Галеева, 2011). Данный метод получил название “альголизация водоема” (Бутакова и др., 2013).

Результаты, полученные в ходе экспериментов по “альголизации” отдельных заливов Цимлянского, Белоярского, Ижевского, Матырского и других водохранилищ, неоднозначны и не позволяют сделать достоверный вывод об эффективности такого метода коррекции альгоценоза (Отчет..., 2009; Биологические..., 2013; Беспалова, 2017).

Цель настоящей работы – установить факт аллелопатического взаимодействия цианобактерий и зеленой водоросли *Chlorella vulgaris* BIN, как наиболее вероятного механизма межвидового взаимодействия у растений, а также подтвердить

или опровергнуть ингибирующее действие хлореллы на штаммы цианобактерий CALU 799 *Dolichospermum spiroides* (Klebhan) Wacklin, L. Hoffmann & Komárek и CALU 1749 *Planktothrix agardhii* (Gomont) Anagnostidis & Komárek в разных соотношениях концентраций клеток.

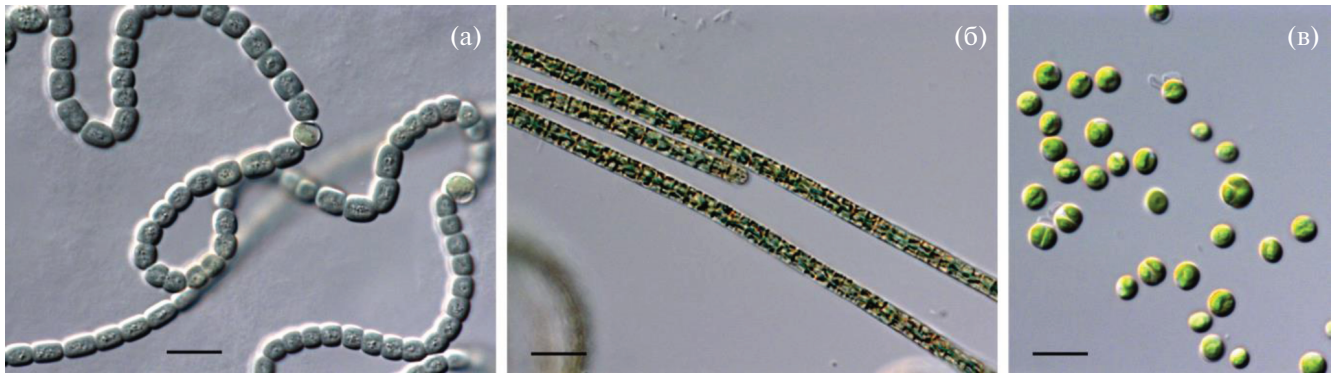
## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В экспериментах использовали три штамма. Штамм № 1 – CALU 799 *Dolichospermum spiroides* (Klebhan) Wacklin, L. Hoffmann & Komárek получен из Ресурсного центра “Культивирование микроорганизмов” Научного парка Санкт-Петербургского государственного университета, где он хранится под коллекционным номером CALU 799 *Anabaena spiroides*. Поскольку вид *A. spiroides* Klebahn был переименован в *Dolichospermum spiroides* (Klebhan) Wacklin, L. Hoffmann & Komárek, в нашем исследовании он указан как CALU 799 *D. spiroides*. Штамм № 2 – CALU 1749 *Planktothrix agardhii* получен из Ресурсного центра “Культивирование микроорганизмов” Научного парка Санкт-Петербургского государственного университета, штамм № 3 – *Chlorella vulgaris* BIN – из ООО “Альготек” (г. Тверь).

Оба рода цианобактерий принадлежат к группе риска, вызывающей “цветение” воды и продуцирующей токсины. *Dolichospermum spiroides* продуцирует гепатотоксин, микроцистин и анатоксин (Komárek, 2013; Li et al., 2016), *Planktothrix agardhii* – микроцистин (Tonk et al., 2005).

*Dolichospermum spiroides* характеризовался свободно плавающими трихомами, в той или иной степени скрученными в спирали с 2–13 спиральными, явно перетянутыми у поперечных стенок, не утончающимися к концу. Клетки сферические, темно-сине-зеленые, с многочисленными аэротопами, (3.5) 4–8 × 6–8 (9) мкм или (5.8) 6–9 (9.5) мкм в диаметре. Гетероцисты более или менее сферические, одиночные, (5.6) 6.5–10 мкм в диаметре. Акинеты интеркалярные, расположены на расстоянии от гетероцист, одиночные (Komárek, 2013). В лабораторных условиях в культурах постоянно наблюдаются спиралевидно скрученные трихомы (рис. 1а). Вид *D. spiroides* относится к водорослям, доминирующим в цветущих водоемах (Jalili et al., 2021).

*Planktothrix agardhii* был представлен большей частью одиночными, свободно плавающими, прямыми или слегка изогнутыми трихомами до 300 мкм длиной. Трихомы шириной (2.3) 4–6 (9.8) мкм, неподвижные, не перетянутые или очень слабо перетянутые у гранулированных поперечных стенок, в большинстве случаев постепенно сужающиеся к концам. Длина клеток меньше ширины, часто клетки изодиаметрические, длиной в 2 раза больше ширины (перед



**Рис. 1.** Морфология исследованных штаммов: а – штамм CALU 799 *Dolichospermum spiroides*; б – штамм CALU 1749 *Planktothrix agardhii*; в – штамм *Chlorella vulgaris* BIN. Шкала – 10 мкм.

делением) (Komárek, Anagnostidis, 2005) (рис. 16). Пресноводные цианобактерии рода *Planktothrix* относятся к основным продуцентам цианотоксинов (Kurmayer et al., 2016; Entfellner et al., 2022).

Штамм *Chlorella vulgaris* BIN имел следующие признаки: молодые клетки шаровидные или слабо эллипсоидные, размером 2–4 мкм. Взрослые клетки шаровидные, диаметром 5–8 мкм (Богданов, 2007) (рис. 1в).

Для выращивания водорослей и цианобактерий использовали среду Z-8, которая применяется для культивирования водорослей и цианобактерий (Bischoff, Bold, 1963). Водородный показатель среды pH 6.5–7.7.

Перед проведением экспериментов культуры цианобактерии CALU 799 *Dolichospermum spiroides*, CALU 1749 *Planktothrix agardhii* и *Chlorella vulgaris* BIN выращивали в течение 7 сут на осветительной установке в при температуре 25°C и режиме освещения 16:8 ч (день:ночь). Эксперименты проводили в колбах объемом 100 мл, которые закрывали ватно-марлевыми пробками и оборачивали парафильмом для предотвращения контаминации.

В культуру цианобактерии вносили *C. vulgaris* BIN в разном разведении, чтобы пропорция цианобактерия: хлорелла по числу клеток была близка к 1 : 1, 10 : 1, 100 : 1, 1000 : 1. В контрольном варианте эксперимента отмечали изменения в культуре цианобактерии без добавления хлореллы. Эксперимент проводили в трех повторностях. Процесс взаимодействия культур наблюдали в течение 14 сут (до его затухания). Число живых и мертвых клеток считали каждые 2–3 сут, начиная с интервала 2 сут и завершая интервалом 3 сут.

Достоверность результатов исследований определяли с помощью критерия Стьюдента (Лаккин, 1990). Для статистической обработки результатов использовали программы StatSoft Statistica v. 10.0. Морфологию видов изучали с помощью микроскопа Axio Image A2 с реализацией дифференциально-интерференционного контраста

(ДИК) и камерой Axio Cam MRC, при увеличении  $\times 1000$  с использованием масляной иммерсии. При микрофотографировании применяли программу AxioVision v. 4.9.

Следует отметить, что CALU 799 *Dolichospermum spiroides*, CALU 1749 *Planktothrix agardhii* и *Chlorella vulgaris* BIN отличались по характеру роста культуры. Если *C. vulgaris* росла рассредоточено в толще воды, то цианобактерии образовывали пленки (скопления трихомов). Это обстоятельство затрудняло подсчет клеток в камере Горяева, поскольку не позволяло оценить точное число клеток цианобактерий при малом увеличении, и, соответственно, определить влияние *C. vulgaris* на рост цианобактерий.

Аллелопатическое влияние *C. vulgaris* BIN на рост цианобактерий CALU 799 *D. spiroides* и CALU 1749 *Planktothrix agardhii* оценивали по соотношению числа живых и мертвых клеток (учитывали только вегетативные клетки).

Живые клетки водорослей и цианобактерий имели такую же морфологию, как и в монокультуре и соответствовали описанию, приведенному в диагнозе вида. Живые клетки *Dolichospermum spiroides* характеризовались сохранностью клеточной стенки (рис. 2а) и сине-зеленой окраской. Мертвые клетки отличались нарушением клеточной оболочки и неравномерной окраской с полупрозрачным содержимым.

Живые клетки *Planktothrix agardhii* имели целую клеточную стенку, сине-зеленую или слегка оливковую окраску (рис. 2б). Мертвые клетки идентифицировали по разрушенной клеточной стенке, полностью разрушенному и бесцветному клеточному содержимому.

У *Chlorella vulgaris* BIN живые клетки характеризовались ярко-зеленой окраской и сохранностью клеточной стенки, а мертвые клетки были бесцветными, с разрушенной клеточной стенкой (рис. 2в).

Для каждой градации получали  $\geq 10$  микрофотографий, по которым анализировали  $\geq 100$



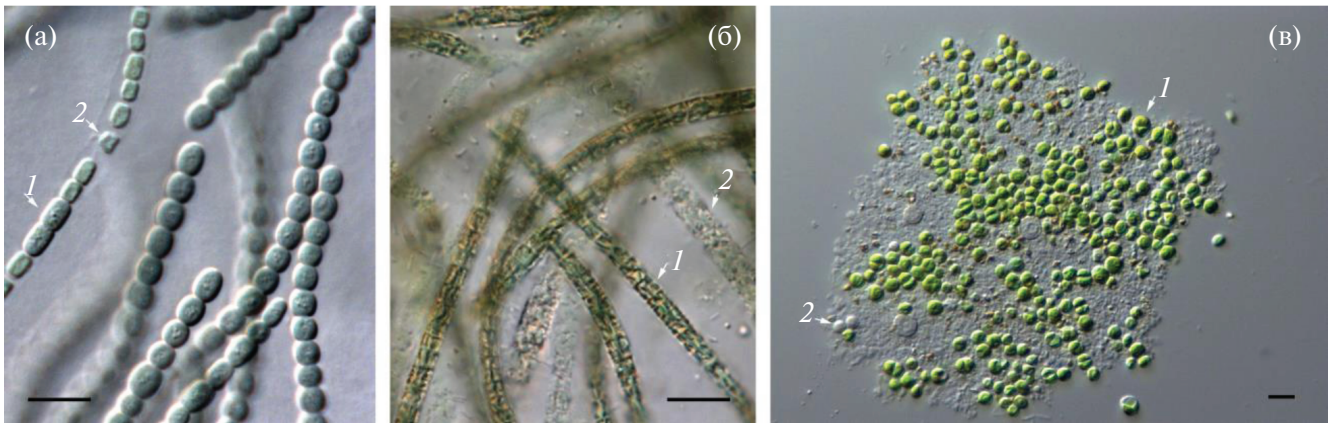


Рис. 2. Живые (1) и мертвые (2) клетки штамма CALU 799 *Dolichospermum spiroides* (а), штамма CALU 1749 *Planktothrix agardhii* (б), штамма *Chlorella vulgaris* BIN (в). Шкала – 10 мкм.

клеток и вычисляли процентное соотношение живых и мертвых клеток водорослей и цианобактерий.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Особенности морфологии клеток исследованных штаммов CALU 799 *Dolichospermum spiroides*, CALU 1749 *Planktothrix agardhii* и *Chlorella vulgaris* BIN при совместном культивировании представлены на рис. 2а–2в. На них наглядно продемонстрировано, что часть клеток водорослей и цианобактерий имели очевидные признаки разрушения (нарушение внутренней структуры и целостности клеточной стенки). Процентное соотношение живых и мертвых клеток в различных вариантах опыта различалось.

При совместном культивировании с *Chlorella vulgaris* для CALU 799 *Dolichospermum spiroides* и CALU 1749 *Planktothrix agardhii* во всех вариантах опыта (при соотношении числа клеток цианобактерий к числу клеток хлореллы 1 : 1, 10 : 1, 100 : 1, 1000 : 1) процентное соотношение числа живых клеток изменялось в границах статистической погрешности в течении всего времени культивирования (табл. 1) и было недостоверным по критерию Стьюдента. Таким образом, ингибирующее влияние культуры *Chlorella vulgaris* BIN на штаммы цианобактерий CALU 799 *Dolichospermum spiroides* и CALU 1749 *Planktothrix agardhii* не выявлено. Следует отметить, что при всех сроках культивирования и во всех градациях эксперимента со штаммом CALU 799 *Dolichospermum spiroides* в культуре наблюдали спиралевидно закрученные трихомы (рис. 3). Такой же тип роста трихомов *D. spiroides* зарегистрирован и в контрольном варианте. Это наблюдение может свидетельствовать об отсутствии влияния *Chlorella vulgaris* BIN на данный штамм цианобактерий.

В то же время, при высоких показателях плотности цианобактерий отмечали увеличение числа



Рис. 3. Спиралевидно закрученный трихом штамма CALU 799 *Dolichospermum spiroides*. Шкала – 10 мкм.

мертвых клеток хлореллы (табл. 1). Установлено влияние *Dolichospermum spiroides* на увеличение числа мертвых клеток *Chlorella vulgaris* при концентрациях “цианобактерия : хлорелла” 10 : 1, 100 : 1, 1000 : 1 (значения  $t_{\text{факт}} = 3.05; 3.17$  и  $7.73$  соответственно). Как видно из значений критерия Стьюдента, с ростом концентрации цианобактерии от 10 : 1 к 1000 : 1 число мертвых клеток *Chlorella vulgaris* BIN увеличивалось. Очевидный рост числа мертвых клеток *C. vulgaris* при концентрации 100 : 1 отмечали с 6-х сут эксперимента, при концентрации 1000 : 1 – со 2-х сут эксперимента (табл. 1).

В экспериментах с *Planktothrix agardhii* увеличение мертвых клеток *Chlorella vulgaris* BIN также было значимым при концентрациях цианобактерия: хлорелла 10:1, 100:1, 1000:1 (значения  $t_{\text{факт}} = 2.73; 2.77$  и  $8.60$  соответственно). Как и в экспериментах с *Dolichospermum spiroides*, число мертвых клеток *Chlorella vulgaris* BIN значимо увеличивалось, начиная с концентрации



**Таблица 1.** Выживаемость (%) клеток штаммов CALU 799 *Dolichospermum spiroides* и CALU 1749 *Planktothrix agardhii* при совместном культивировании с штаммом *Chlorella vulgaris* BIN и штамма *Chlorella vulgaris* BIN при совместном культивировании с CALU 799 *Dolichospermum spiroides* и CALU 1749 *Planktothrix agardhii*

Сутки	Контроль	1 : 1	10 : 1	100 : 1	1000 : 1	Контроль	1 : 1	10 : 1	100 : 1	1000 : 1
Штаммы CALU 799 <i>Dolichospermum spiroides</i> и <i>Chlorella vulgaris</i> BIN										
0	97.5 ± 2.0	94.6 ± 2.0	91.8 ± 3.0	99.3 ± 1.0	96.1 ± 2.0	95.3 ± 2.0	96.6 ± 2.0	93.5 ± 2.0	97.2 ± 1.0	96.1 ± 1.0
2	98.4 ± 2.0	98.2 ± 1.0	98.3 ± 2.0	97.6 ± 2.0	94.6 ± 2.0	97.1 ± 1.0	94.2 ± 2.0	94.7 ± 2.0	94.9 ± 2.0	94.3 ± 2.0
4	99.3 ± 1.0	96.4 ± 2.0	97.6 ± 2.0	98.5 ± 2.0	98.2 ± 1.0	94.7 ± 2.0	92.7 ± 2.0	96.1 ± 2.0	98.5 ± 1.0	97.1 ± 1.0
6	99.1 ± 1.0	93.3 ± 3.0	99.3 ± 1.0	98.6 ± 1.0	97.4 ± 2.0	95.2 ± 2.0	93.4 ± 2.0	92.6 ± 2.0	99.2 ± 1.0	96.3 ± 1.0
8	99.3 ± 1.0	96.8 ± 2.0	96.0 ± 2.0	97.1 ± 2.0	95.0 ± 3.0	92.9 ± 2.0	95.1 ± 2.0	94.5 ± 2.0	96.3 ± 2.0	94.7 ± 2.0
11	98.7 ± 2.0	99.0 ± 1.0	95.8 ± 1.0	97.4 ± 2.0	92.1 ± 3.0	94.5 ± 2.0	98.3 ± 1.0	97.1 ± 1.0	98.6 ± 1.0	93.5 ± 2.0
14	1000	97.6 ± 2.0	95.9 ± 2.0	97.8 ± 2.0	96.0 ± 2.0	93.9 ± 2.0	97.4 ± 1.0	95.7 ± 2.0	96.7 ± 2.0	97.1 ± 1.0
Штаммы <i>Chlorella vulgaris</i> BIN и CALU 799 <i>Dolichospermum spiroides</i>										
0	96.9 ± 2.0	96.9 ± 2.0	95.1 ± 2.0	97.9 ± 1.0	87.3 ± 2.0	98.7 ± 1.0	99.2 ± 1.0	97.7 ± 1.0	96.6 ± 2.0	89.3 ± 2.0
2	97.3 ± 2.0	98.6 ± 1.0	97.2 ± 2.0	96.4 ± 2.0	85.6 ± 3.0	99.1 ± 1.0	96.7 ± 2.0	95.4 ± 2.0	95.9 ± 2.0	78.6 ± 3.0
4	98.7 ± 1.0	97.2 ± 2.0	96.3 ± 2.0	95.7 ± 2.0	73.4 ± 3.0	97.6 ± 2.0	95.4 ± 2.0	95.1 ± 2.0	97.3 ± 1.0	79.4 ± 2.0
6	99.3 ± 1.0	94.9 ± 2.0	98.2 ± 1.0	81.5 ± 3.0	70.2 ± 2.0	94.8 ± 2.0	98.1 ± 1.0	93.6 ± 2.0	93.4 ± 2.0	81.7 ± 2.0
8	97.7 ± 2.0	97.1 ± 2.0	95.1 ± 2.0	82.3 ± 2.0	73.7 ± 2.0	98.3 ± 1.0	97.3 ± 1.0	95.4 ± 2.0	92.9 ± 2.0	76.9 ± 2.0
11	98.5 ± 1.0	95.3 ± 2.0	94.1 ± 1.0	79.4 ± 2.0	69.9 ± 3.0	95.7 ± 2.0	95.9 ± 2.0	93.1 ± 2.0	90.2 ± 2.0	73.5 ± 3.0
14	97.1 ± 2.0	96.8 ± 2.0	92.7 ± 2.0	79.8 ± 3.0	69.6 ± 3.0	96.6 ± 2.0	96.4 ± 2.0	94.6 ± 2.0	91.4 ± 2.0	74.1 ± 3.0

10 : 1, и достигало максимума при концентрации 1000 : 1 (табл. 1). Очевидное увеличение числа мертвых клеток *C. vulgaris* BIN наблюдали со 2-х сут при концентрации 10 : 1. Исходя из сравнения значений критерия Стьюдента на итоговые 14-е сут опыта, ингибирующее воздействие на *C. vulgaris* BIN было более выражено у CALU 799 *Dolichospermum spiroides* (табл. 1).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Основной целью исследования было подтвердить или опровергнуть ингибирующее действие хлореллы на культуры штаммов цианобактерий CALU 799 *Dolichospermum spiroides* и CALU 1749 *Planktothrix agardhii* в разных соотношениях концентраций клеток.

Поиском фактов ингибирующего действия хлореллы также занимались сотрудники Волгоградского отделения ГосНИИ озерного и речного рыбного хозяйства (Вехов и др., 2014). В 2006–2012 гг. с целью борьбы с цианобактериями и уменьшением “цветения” воды проводили вселение в Цимлянское водохранилище *Chlorella vulgaris* штаммов BIN, ИФР С-111 на основе метода Н.И. Богданова (Богданов, 2007; Кравцова, Калинина, 2013). Результаты этих мероприятий неоднозначны и не позволяют охарактеризовать их воздействие как положительно-отрицательное или нейтральное из-за множества неучтенных экологических факторов, характерных для экспериментов по схеме *in vivo* (Бульон и др., 2008; Калинина и др., 2013).

В ряде предыдущих исследований, проводимых по схеме *in vivo* в естественных природных водоемах, получены свидетельства отсутствия эффекта от “альголизации водоемов”. Так, в Ижевском водохранилище после его “альголизации” в 2009 г. отмечали пятикратное увеличение числа цианобактерий (Бутакова и др., 2013). При изучении взаимного влияния *Chlorella vulgaris* ИФР № С-111 и 11 культур цианобактерий по схеме *in vitro* только четыре вида погибали под влиянием водоросли. Другие виды цианобактерий приспосабливались к росту в присутствии *C. vulgaris* ИФР № С-111 и развивались, а на штамм *Synechococcus* sp. № 535 водоросль оказала стимулирующее действие (Бутакова и др., 2013).

Наши исследования показали отсутствие угнетения исследованных штаммов цианобактерий CALU 799 *Dolichospermum spiroides* и CALU 1749 *Planktothrix agardhii* штаммом *Chlorella vulgaris* BIN в процессе сокультивирования с ними, что согласуется с результатами ранее опубликованных работ.

Выявлено угнетение штамма *C. vulgaris* BIN штаммами цианобактерий CALU 799 *Dolichospermum spiroides* и CALU 1749 *Planktothrix agardhii*.

Токсическое воздействие штаммов начиналось с концентрации цианобактерия : хлорелла 10 : 1. Такие условия можно наблюдать в природной среде при “цветении” водоемов в случае бурного развития *Dolichospermum spiroides* и *Planktothrix agardhii*. Следует отметить, что негативное влияние цианобактерий проявлялось раньше при более высокой плотности культур цианобактерий, что, по-видимому, связано с более ранним достижением высоких концентрацией токсичных субстанций в среде. С учетом имеющихся в литературе сведений о токсичности *Dolichospermum spiroides* и *Planktothrix agardhii* (Tonk et al., 2005; Komárek, 2013; Li et al., 2016), их ингибирующее действие на *Chlorella vulgaris*, выявленное нами в ходе эксперимента, вполне закономерно.

Угнетающее влияние *Planktothrix agardhii* на другие виды водорослей и цианобактерий отмечено в других работах. Так, известны данные о взаимном подавлении роста при совместном культивировании *P. agardhii* и *Cylindrospermopsis raciborskii* (Wołoszyńska) Seenayya & Subba Raju (Ammar et al., 2014).

Кроме того, имеются сведения об угнетении развития представителей рода *Chlorella* при совместном культивировании с другими цианобактериями и водорослями. Установлено ингибирующее воздействие цианобактерии *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing на *Chlorella vulgaris* за счет синтеза линолевой кислоты (Song et al., 2017). Кроме того, обнаружено использование *Microcystis aeruginosa* преимущества клеточного сигнального соединения оксида азота, продуцируемого *Chlorella vulgaris*. Это соединение стимулирует механизм положительной обратной связи по высвобождению линолевой кислоты *Microcystis aeruginosa* (Song et al., 2017). Причем, ингибирующее действие *M. aeruginosa* на *Chlorella vulgaris* сохранялось даже в опытах при исходном преобладающем соотношении числа клеток хлореллы к микроцистису от 6:1 до 12:1 (Song et al., 2017). Угнетение хлореллы наблюдали и при совместном культивировании *Chlorella sorokiniana* Shihira & R.W.Krauss и *Coelastrella* (Corcoran et al., 2019), а также *Chlorella vulgaris* и цианобактерии *Microcystis aeruginosa* (Žak, Kosakowska, 2014). Обнаружено, что постоянная стимуляция образования колоний *M. aeruginosa* в природных условиях приводит к ингибированию роста *Chlorella vulgaris* (Dong et al., 2019). Выявлено выраженное ингибирующее влияние экссудата штамма OSC AP 1 *Oscillatoria* sp. на *Chlorella vulgaris* (Leão et al., 2009).

Имеются сведения об отсутствии выраженного взаимного влияния *C. vulgaris* и *Planktothrix isothrix* (Skujia) Komárek & Komárková при сокультивировании (Silva-Benavides, Torzillo, 2012). Установлено, что при выращивании на городских сточных водах скорость роста цианобактерий *Aphanizomenon*



*ovalisporum* Forti и *Anabaena planctonica* Brunthaler сопоставима с таковой у *Chlorella vulgaris* (Mendez et al., 2016).

В то же время, некоторые данные подтверждают аллелопатическое воздействие хлореллы на другие водоросли через хлореллин — вещество из группы жирных кислот (C18), обладающее антибиотической активностью (Dela Greca et al., 2010). Так, в эксперименте *in vitro* при сокультивировании *C. vulgaris* и *Raphidocelis subcapitata* (Korshikov) Nygaard, Komárek, J. Kristiansen et O.M. Skulberg ( $\equiv$  *Pseudokirchneriella subcapitata* (Korshikov) F. Hindák) отмечено стимулирующее влияние низких концентраций хлореллина на рост обоих видов водорослей. Повышение концентрации хлореллина в среде до 6.5 мг/л за счет внесения синтетического аналога приводило к ингибированию роста *R. subcapitata*, что подтверждает возможность вытеснения одной водоросли другой при аллелопатическом взаимодействии (Fergola et al., 2007). Вероятно, *Chlorella vulgaris* способна оказывать воздействие на ряд водорослей и цианобактерий, причем направленность этого влияния (стимулирование или угнетение) зависит от концентрации хлореллина и других биологически-активных веществ, и, следовательно, плотности культуры водоросли в среде.

Увеличение числа мертвых клеток штамма *C. vulgaris* BIN с увеличением плотности культур штаммов CALU 799 *Dolichospermum spiroides* и CALU 1749 *Planktothrix agardhii* свидетельствует о способности этих видов цианобактерий вырабатывать вещества, разрушающие плотную клеточную стенку *Chlorella vulgaris*. По данным (Safi et al., 2014; Mendez et al., 2015), регидность клеточной стенки *C. vulgaris* предохраняет водоросль от экстремальных условий окружающей среды.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В условиях эксперимента не выявлено ингибирующее влияние штамма водоросли *Chlorella vulgaris* BIN на выживание цианобактерий CALU 799 *Dolichospermum spiroides* и CALU 1749 *Planktothrix agardhii* при совместном культивировании. Отмечено увеличение числа мертвых клеток хлореллы при высоких показателях плотности цианобактерий как результат их токсического воздействия. Значимое влияние CALU 799 *Dolichospermum spiroides* и CALU 1749 *Planktothrix agardhii* на увеличение числа мертвых клеток хлореллы зарегистрировано при концентрациях цианобактерия : хлорелла 10 : 1, 100 : 1, 1000 : 1.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследования проводили при финансовой поддержке Государственного задания

Министерства просвещения РФ в рамках проекта BWUZ 2023-0001.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Белых О.И., Гладких А.С., Сорокикова Е.Г. и др. 2013. Микроцистин-продуцирующие цианобактерии в водоемах России, Беларуси и Украины // Химия в интересах устойчивого развития. № 21. С. 363.
- Беспалова Е.В. 2017. Оценка состояния водных экосистем Центрального Черноземья на основе анализа структурных перестроек комплексов микроводорослей и цианобактерий // Проблемы экологического мониторинга и моделирование экосистем. Т. 28. № 3. С. 84.
- Биологические и химические эффекты антропогенного эвтрофирования Ижевского водохранилища. 2013. Ижевск: Удмуртский ун-т.
- Богданов Н.И. 2007. Биологические основы предотвращения “цветения” Пензенского водохранилища синезелеными водорослями. Пенза: РИО ПГСХА.
- Бульон В.В., Воякина Е.Ю., Королев А.Е. и др. 2008. О книге Н.И. Богданова “Биологические основы предотвращения “цветения” Пензенского водохранилища синезелеными водорослями”. СПб.: ООО “Изд-во “ЛЕМА”.
- Бутакова Е.А., Павлюк Т.Е., Ушакова О.С. и др. 2013. К вопросу об альголизации водоемов // Водное хозяйство России: проблемы, технологии, управление. № 5. С. 75.
- Вехов Д.А., Науменко А.Н., Горелов В.П. и др. 2014. Современное состояние и использование водных биоресурсов Цимлянского водохранилища (2009–2013 гг.) // Рыбохозяйственные исследования на водных объектах Европейской части России. СПб.: ГосНИОРХ. С. 116.
- Волошко Л.Н., Пиневич А.В. 2014. Разнообразие токсинов цианобактерий // Астрахан. вестн. экол. образования. № 1(27). С. 68.
- Глуценко Г.Ю. 2019. Цианопрокариоты Нижнего Дона в 2017–2018 годах: Матер. докл. II Междунар. науч. шк.-конф. “Цианопрокариоты/цианобактерии: систематика, экология, распространение”. 16–21 сентября 2019 г. Сыктывкар, Россия. С. 104.
- Калайда М.Л., Галеева М.Э. 2011. Эксперименты по альголизации водоемов одноклеточной водорослью *Chlorella vulgaris* // Вестн. Казан. энергетического ун-та. № 3(10). С. 45.
- Калинина С.Г., Кравцова Г.В., Вунхло Е.В. 2013. Фитопланктон и “цветение” воды в Цимлянском водохранилище в связи с проведением его альголизации // Изучение, сохранение и восстановление естественных ландшафтов. Сб. статей III Междунар. науч.-практ. конф. (7–10 октября 2013 г.). М.: Планета. С. 430.
- Колмаков В.И. 2006. Методы предотвращения массового развития цианобактерии *Microcystis aeruginosa*

- Kütz. emend. Elenk. в водных системах // Микробиология. Т. 75. № 2. С. 149.
- Корнева Л.Г., Глущенко Г.Ю. 2020. Состав и сезонная сукцессия фитопланктона Таганрогского залива Азовского моря и нижнего течения р. Дон в условиях изменяющегося климата // Биология внутр. вод. № 1. С. 18.  
<https://doi.org/10.31857/S032096522001009X>
- Кравцова Г.В., Калинина С.Г. 2013. Результаты эксперимента по воздействию штамма *Chlorella vulgaris* VIN на альгопланктоценоз Цимлянского водохранилища в условиях интенсивного “цветения” воды // Изучение, сохранение и восстановление естественных ландшафтов. Сб. статей III Междунар. науч.-практ. конф. (7–10 октября 2013 г.). М.: Планета. С. 459.
- Лакин Г.Ф. 1990. Биометрия. М.: Высш. шк.
- Никаноров А.М., Хоружая Т.А., Минина Л.И., Мартышева Н.А. 2010. Опасность “цветения” Цимлянского водохранилища // Электронный научный журнал “Исследовано в России”. [Электронный ресурс] Режим доступа: <http://zhurnal.ape.relarn.ru/articles/2010/012.pdf>
- Отчет о проведенных работах по послепаvoudковому вселению микроводоросли хлорелла и проведение мониторинга воды Ижевского водохранилища. 2009. Воронеж: НПО “Альгобиотехнология”.
- Селезнева К.В., Селезнева А.В., Селезнев В.А. 2022. Дефицит растворенного кислорода в условиях массового развития синезеленых водорослей на Куйбышевском водохранилище // Водное хозяйство России: проблемы, технологии, управление. № 4. С. 38.
- Ammar M., Comte K., Tran T.D.C. et al. 2014. Initial growth phases of two bloom-forming cyanobacteria (*Cylindrospermopsis raciborskii* and *Planktothrix agardhii*) in monocultures and mixed cultures depending on light and nutrient conditions // Annales de Limnologie – International J. Limnol. V. 50. № 3. P. 231.
- Bischoff H.W., Bold H.C. 1963. Phycological studies. IV. Some soil algae from Enchanted Rock and related algal species. Austin: University of Texas Publications 6318.
- Corcoran A.A., Seger M., Niu R. et al. 2019. Evidence for induced allelopathy in an isolate of *Coelastrella* following co-culture with *Chlorella sorokiniana* // Algal Res. V. 41. P. 101535.  
<https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101535>
- Dai W., Chen X., Wang X. et al. 2018. The Algicidal fungus *Trametes versicolor* F21a eliminating blue algae via genes encoding degradation enzymes and metabolic pathways revealed by transcriptomic analysis // Frontiers in Microbiol. V. 9. P. 826.
- Della Greca M., Zarrelli A., Fergola P. et al. 2010. Fatty Acids Released by *Chlorella vulgaris* and Their Role in Interference with *Pseudokirchneriella subcapitata*: Experiments and Modelling // J. Chem. Ecol. V. 36. P. 339.
- Entfellner E., Li R., Jiang Y. et al. 2022. Toxic/bioactive peptide synthesis genes rearranged by insertion sequence elements among the bloom-forming cyanobacteria *Planktothrix* // Frontiers in Microbiol. V. 13. P. 901762.  
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.901762>
- Fergola P., Cerasuolo M., Pollio A. et al. 2007. Allelopathy and competition between *Chlorella vulgaris* and *Pseudokirchneriella subcapitata*: Experiments and mathematical model // Ecol. Model. V. 208. P. 205.
- Dong J., Li C., Chang M. et al. 2019. Effects of toxic cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* on the morphology of green alga *Chlorella vulgaris* // Ann. Limnol. – International J. Limnol. V. 55. P.7.
- Harmful cyanobacteria. 2006. Dordrecht: Springer.
- Jalili F., Trigui H., Guerra Maldonado J.F. 2021. Can cyanobacterial diversity in the source predict the diversity in sludge and the risk of toxin release in a drinking water treatment plant? // Toxins. V. 13. № 1. P. 25.  
<https://doi.org/10.3390/toxins13010025>
- Jeppesen E., Jensen J.P., Kristensen P. et al. 1990. Fish manipulation as a lake restoration tool in shallow, eutrophic, temperate lakes 2: threshold levels, long-term stability and conclusions // Biomanipulation tool for water management. Dordrecht: Springer. P. 219.
- Komárek J. 2013. Cyanoprokaryota 3. Teil/3rd Part: Heterocytous genera // Süßwasserflora von Mitteleuropa. Bd 19/3. Munich: Elsevier GmbH.
- Komárek J., Anagnostidis K. 2005. Cyanoprokaryota. 2. Teil: Oscillatoriales // Süßwasserflora von Mitteleuropa. Bd 19/2. Jena; Stuttgart; Lübeck. Ulm.
- Kurmayer R., Deng L., Entfellner E. 2016. Role of toxic and bioactive secondary metabolites in colonization and bloom formation by filamentous cyanobacteria *Planktothrix* // Harmful Algae. V. 54. P. 69.  
<https://doi.org/10.1016/j.hal.2016.01.004>
- Leão P.N., Vasconcelos M.T.S., Vasconcelos V.M. 2009. Allelopathic activity of cyanobacteria on green microalgae at low cell densities // Eur. J. Phycol. V. 44. № 3. P. 347.  
<https://doi.org/10.1080/09670260802652156>
- Li X., Dreher T.W., Li R. 2016. An overview of diversity, occurrence, genetics and toxin production of bloom-forming *Dolichospermum* (*Anabaena*) species // Harmful Algae. V. 54. P. 54.
- Mendez L., Sialve B., Tomás Pejó E. et al. 2016. Comparison of *Chlorella vulgaris* and cyanobacterial biomass: cultivation in urban wastewater and methane production // Biopr. and Biosyst. Engin. V. 39. P. 703.
- Mendez L., Mahdy A., Ballesteros M. et al. 2015. *Chlorella vulgaris* vs cyanobacterial biomasses: comparison in terms of biomass productivity and biogas yield // Energy Conv. Manag. V. 92. P. 137e142.
- Merel S., Walker D., Chicana R. et al. 2013. State of knowledge and concerns on cyanobacterial blooms and cyanotoxins // Environ. Int. № 59. P. 303.
- Middelboe M., Jacquet S., Weinbauer M. 2008. Viruses in freshwater ecosystems: an introduction to the exploration of viruses in new aquatic habitats // Freshwater Biol. № 53. P. 1069.



- Safi C., Zebib B., Merah O. et al. 2014. Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review // Renew. Sustain. Energy Rev. V. 35. P. 265.  
https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.04.007
- Silva-Benavides A., Torzillo G. 2012. Nitrogen and phosphorus removal through laboratory batch cultures of microalga *Chlorella vulgaris* and cyanobacterium *Planktothrix isothrix* grown as monoalgal and as co-cultures // J. Appl. Phycol. V. 24. P. 267.
- Song H., Lavoie M., Fan X. et al. 2017. Allelopathic interactions of linoleic acid and nitric oxide increase the competitive ability of *Microcystis aeruginosa* // ISME J. V. 1. № 8. P. 1865.  
https://doi.org/10.1038/ismej.2017.45
- Tonk L., Visser P.M., Christiansen G. et al. 2005. The microcystin composition of the cyanobacterium *Planktothrix agardhii* changes toward a more toxic variant with increasing light intensity // Appl. Environ. Microbiol. V. 71. P. 5177.
- Rollwagen-Bollens G., Lee T., Rose V., Bollens S.M. 2018. Beyond eutrophication: vancouver lake, wa, usa as a model system for assessing multiple, interacting biotic and abiotic drivers of harmful cyanobacterial blooms // Water. V. 10. № 757.
- Žak A., Kosakowska A. 2014. Allelopathic influence of cyanobacteria *Microcystis aeruginosa* on green algae *Chlorella vulgaris* // Geoplanet Earth Planet Sci. V. 14. P. 141.

## Mutual Influence of Cyanobacteria and Green Algae in Cocultures Using the Example of *Dolichospermum spiroides*, *Planktothrix agardhii*, and *Chlorella vulgaris*

L. A. Gaysina<sup>1,2</sup>, N. Y. Novikova<sup>1</sup>, N. B. Gibadullina<sup>1</sup>, A. A. Padalka<sup>3</sup>, T. E. Pavlyuk<sup>3,\*</sup>

<sup>1</sup>M. Akmullah Bashkir State Pedagogical University, Ufa, Russia

<sup>2</sup>All-Russian Research Institute of Phytopathology, Bolshye Vyazemy, Russia

<sup>3</sup>Russian Research Institute of Integrated Water Management and Protection, Yekaterinburg, Russia

\*e-mail: T.Pavlyuk@mail.ru

The excessive intake of biogenic elements into water bodies leads to the active development of planktonic algae, water bloom pathogens, which mostly include cyanobacteria. In vitro studies have allowed us to test a working hypothesis on the absence of any inhibitory effect of metabolites of the *Chlorella vulgaris* BIN strain on the CALU 799 *Dolichospermum spiroides* (Klebhan) Wacklin, L. Hoffmann & Komárek and CALU 1749 *Planktothrix agardhii* (Gomont) Anagnostidis & Komárek cyanobacterial cultures in working concentrations of 1 : 1, 10 : 1, 100 : 1, and 1000 : 1 (cyanobacteria : chlorella). In a series of experiments, no effect of chlorella culture on the viability of cells of the studied cyanobacteria has been detected. However, high cyanobacteria densities (concentrations of 1 : 1, 10 : 1, 100 : 1, and 1000 : 1) are associated with an increase in the number of dead chlorella cells. The toxic effect of the CALU 799 *D. spiroides* strain is more pronounced in comparison with that of CALU 1749 *Planktothrix agardhii*.

**Keywords:** cyanobacteria, water “blooming”, *Chlorella vulgaris*, allelopathy, algae co-cultivation