

Культури водоростей як модельний об'єкт для вивчення альгобактеріальних угруповань (консорцій)

Борисова О.В.

*Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України,
вул. Терещенківська, 2, Київ 01601, Україна
oborysova17@gmail.com*

Надійшла до редакції 17.05.2022. Після доопрацювання 27.05.2022. Підписана до друку 30.05.2022.
Опублікована 22.06.2022

Реферат. Наведено результати мікробіологічного аналізу альгологічно чистих культур зелених (*Chlorophyta*) та харофітових (*Charophyta*) водоростей, які являють собою альгобактеріальні угруповання (консорції) – сукупності різнорідних організмів, тісно пов'язаних між собою трофічно й топічно, складені з центрального ядра (автотрофної водорості одного виду) та низки консортів (гетеротрофних бактерій). Матеріалом для аналізу слугували 12 культур прісноводних (*Chlorella vulgaris* Beij., *Coelastrum rugosum* (P.G.Richt.) P.Tsarenko і *Tetrademus dimorphus* (Turpin) M.J.Wynne) та аерофітних (*Klebsormidium flaccidum* (Kütz.) Silva, Mattox et Blackwell) водоростей з колекції Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України (IBASU-A). Кожен вид водоростей представлений трьома штамми, виділеними впродовж 1961–2018 рр. з території України та інших країн Євразії. Всього з досліджуваних альгологічно чистих культур водоростей ізольовано та ідентифіковано за фенотиповими (морфолого-культуральними, тінкторіальними, хемотаксономічними та фізіолого-біохімічними) ознаками 82 штами бактерій. Виявлено наявність комплексів бактеріальних консортів чотирьох типів, які містять не більше 7 видів. За видовим складом усі комплекси є однаковими для штамів водоростей одного роду, але відрізняються від видів водоростей інших родів. Хоча окремі види бактерій трапляються в комплексах різних типів. Це свідчить про приуроченість гетеротрофних бактеріальних консортів до автотрофного детермінанту консорції та підтверджує консортивний характер альгобактеріальних угруповань взагалі. Для поперед-

ньої характеристики консорцій та вивчення їхніх особливостей і функціонування запропоновано експрес-метод на основі використання модифікованої нумеричної системи морфологічної оцінки бактеріальних колоній.

Ключові слова: колекція IBASU-A, культури мікроводоростей, альгобактеріальне угруповання, консорція, бактеріальні консорти

Вступ

На сучасному етапі розвитку наукових досліджень чисті культури мікроводоростей широко використовуються для вирішення важливих теоретичних та практичних завдань фікології, гідробіології, біохімії, генетики, біотехнології тощо. Джерелом для одержання лабораторних культур слугує зібраний у природі живий альгологічний матеріал (аерофітні, водні, ґрунтові та інші проби, зразки), який, як правило, містить суміш різних видів водоростей та супутніх їм бактерій. При введенні водоростей у культуру найчастіше використовуються такі традиційні методи, як розсів альгологічного матеріалу на агаризованих живильних середовищах та ізолювання окремих клітин за допомогою скляних капілярів (Algal..., 2005). Особливо цінним вважається капілярний метод, оскільки дозволяє одержувати клонові культури зі збереженням природних комплексів супутніх бактерій, які потрапляють у капіляр разом з клітиною (ценобієм, ниткою) одного виду водорості завдяки дуже малим розмірам. Завдяки цьому альгологічно чисті культури є унікальними модельними об'єктами для вивчення альгобактеріальних угруповань, які формуються в період масового розвитку водоростей у різних природних місцезростаннях, наприклад, «цвітіння» водойм та ґрунтів різного типу, обростання гірських порід, будівель, промислових матеріалів, фікосфери судинних рослин тощо (Dedysch et al., 1992; Wasser et al., 1992; Zenova et al., 1995; Zenova, Kalakutskaya, 1993; Kim et al., 2014; Deng et al., 2022). З точки зору фітоценології альгологічно чиста культура являє собою консорцію, яка складається з центрального ядра (детермінанта консорції), сформованого популяцією автотрофної водорості одного виду, та зв'язаних з ним трофічно і топічно гетеротрофних мікроорганізмів (бактеріальних консортів). Трофічно залежні від автотрофних водоростей (первинних продуцентів) бактеріальні консорти одержують необхідну їм енергію та органічну речовину з прижиттєвих виділень (екскрісотрофи) та/або відмерлих клітин водоростей (сапрофіти) (Rabotnov, 1978).

Незважаючи на те, що чисті водоростеві культури мають велике значення для вирішення багатьох теоретичних і практичних питань фікології, і особливо біотехнології, відомості щодо видів бактерій, які

розвиваються спільно з водоростями в культуральних умовах дуже обмежені. Певною мірою це стосується і термінів, які зустрічаються в науковій літературі, зокрема «альгобактеріальна асоціація», «альгобактеріальне угруповання», «альгобактеріальний ценоз (комплекс, симбіоз)». Загалом вони використовуються переважно для характеристики сукупності декількох різних видів водоростей і зв'язаних з ними бактерій, а також багатьох інших гетеротрофних мікроорганізмів (грибів, дріжджів, актиноміцетів, найпростіших тощо), які можна спостерігати в природі, а також ізолювати, культивувати та вивчати в модельних експериментах (Dedyshet et al., 1992; Glagoleva et al., 1992; Zenova, Kalakutskaya, 1993; Nemtsova et al., 2018). Але ці терміни не повністю віддзеркалюють специфіку об'єкта даного дослідження. Можливо, термін «консорція» або «альгобактеріальна консорція» є більш придатним для уточнення визначення сукупності особин автотрофного організму одного виду, в даному випадку водорості, та зв'язаних із нею гетеротрофних видів бактерій як одного (системного) цілого.

Дослідження альгобактеріальних угруповань з позиції консортивного підходу полягає в поетапному проведенні мікробіологічного аналізу альгологічно чистих культур водоростей для визначення кількісного та якісного складу їхнього гетеротрофного компоненту шляхом ізолювання наявних видів бактерій, вивчення їхніх біологічних властивостей, ідентифікацію та виявлення специфічних рис, що характеризують ці угруповання як конкретні альгобактеріальні консорції.

Метою даної роботи було вивчення кількісного та якісного складу гетеротрофних бактерій, що розвиваються в альгологічно чистих культурах водоростей порядків *Chlorellales*, *Sphaeropleales* (*Chlorophyta*) та *Klebsormidiales* (*Charophyta*) із застосуванням методів консортивного підходу дослідження природних альгобактеріальних угруповань, аналіз одержаних результатів та визначення значення відправних показників для майбутніх досліджень і практичного використання водоростевих культур як модельних об'єктів.

Матеріали та методи

Для дослідження використовували 12 альгологічно чистих культур водоростей з колекції (IBASU-A): 9 штамів прісноводних (*Chlorella vulgaris* Beij., *Coelastrum rugosum* (P.G.Richt.) P.Tsarenko, *Tetradesmus dimorphus* (Turpin) M.J.Wynne) та 3 аерофітних (*Klebsormidium flaccidum* (Kütz.) Silva, Mattox et Blackwell). (Borysova et al., 2014). Введені в культуру штами водоростей ізолювані в різний час з різних

місцезнаходжень на території України та інших країн Європи. Вони підтримуються в умовах колекційного зберігання протягом багатьох років (Borysova, Tsarenko, 2021).

Для проведення мікробіологічного аналізу водорості культивували в стерильних умовах на рідких живильних середовищах різного мінерального складу без додавання органічних речовин у плоскодонних колбах ємністю 100 мл при освітленості 2000 лк з тривалістю освітлення 8 год на добу та температурі у світловий період 24–28 °С. Для водоростей *C. rugosum* та *T. dimorphus* використовували середовище Бурпелі (Soeder, Hegewald, 1988), *C. vulgaris* і *K. flaccidum* – 3N BBM (Bischoff, Bold, 1963).

Мікробіологічний аналіз досліджуваних культур проводили під час вирощування водоростей в умовах непроточної накопичувальної культури шляхом відбору проб через 3, 7, 15, 20, 30 діб культивування та висіву їхніх десятикратних розведень на м'ясо-пептонний агар (МПА) з 1,0% крохмалю. Після 10 діб інкубування в термостаті при температурі 28 °С ізолювали колонії різних типів. Опис колоній проводили за модифікованою нумеричною системою морфологічної оцінки бактеріальних колоній (Swiatecki, 1988). Ізольовані бактерії ідентифікували за фенотиповими ознаками, які мають таксономічне значення згідно з визначником (Bergey's..., 1984). Культуральні, морфологічні, тінкторіальні, фізіолого-біохімічні та хемотаксономічні властивості ізольованих бактерій вивчали за загальноприйнятими методами (Labinskaya, 1972; Minikin et al., 1975; Nesterenko et al., 1985; Lechevalier, 1986; Nogina et al., 1989; Smirnov, Kiprianova, 1990; Kotsoflyak et al., 2003).

Схема нумеричної системи морфологічної оцінки бактеріальних колоній А. Святецького (Swiatecki, 1988) модифікована нами на основі вивчення колоній 210 штамів бактеріальних консортів, ізольованих з культур мікроводоростей колекції IBASU-A, представників порядків *Chlamydomonadales*, *Chlorellales*, *Dunaliellales*, *Klebsormidiales*, *Spheropleales* за кольором, формою, прозорістю та консистенцією. Одержані результати, з урахуванням деяких тінкторіальних та фізіолого-біохімічних особливостей бактерій, дозволили зібрати фенотипові ознаки у чотири групи і приписати їм відповідне числове значення: одиниць, десятків, сотень та тисяч (табл. 1). За допомогою схеми було одержано цифровий код колонії кожного бактеріального виду шляхом запису ознак в окремих групах як суму численних значень.

Таблиця 1. Модифікована схема нумеричної системи морфологічної оцінки бактеріальних колоній

Колір колонії	Безбарвна	Біла	Кремова	Лимонно-жовта	Жовта	Помаранчева	Рожева	Малинова	Червона
Число	1000	2000	3000	4000	5000	6000	7000	8000	9000
Форма колонії	Пласка	Опухла	3 опуклим центром	Кратероподібна	Конусоподібна	Розповзаюча	Амебовидна	3 концентричними колами	Радіально покреслена
Число	100	200	300	400	500	600	700	800	900
Поверхня, прозорість, консистенція колонії	Блискуча	Матова	Гладка	Шорстка	Зморшкувата	Прозора	Непрозора	Напівпрозора	Слизиста
Число	10	20	30	40	50	60	70	80	90
Тінкторіальні та фізіологічно-біохімічні ознаки	Грампозитивні, крохмаль гідролізують	Грампозитивні, крохмаль не гідролізують	Грампозитивні, крохмаль не гідролізують	Грампозитивні, крохмаль гідролізують	Грампозитивні, крохмаль гідролізують	Грампозитивні, крохмаль не гідролізують	Грампозитивні, крохмаль не гідролізують	Грампозитивні, крохмаль не гідролізують	Грампозитивні, крохмаль не гідролізують
Число	1	2	3	4	5	6	7	8	9

Таблиця 2. Характеристика культур водоростей із колекції IBASU-A, з яких ізольовані бактерії

Таксон	Час ізолювання та характеристика місцезнаходжень штамів	Види бактерій
<i>Chlorella vulgaris</i> Beij. (шт. 452)	1962 р., РФ, Магаданська обл., Чукотський п-ів, Чаплинські терми, дерев'яна стінка, зелена плівка	<i>Flavobacterium</i> sp. <i>Pseudomonas</i> sp. <i>Rhodococcus erythropolis</i> <i>R. fasciens</i> Неіндіфікований-1 Неіндіфікований-2 Неіндіфікований-3
<i>C. vulgaris</i> (шт. 453)	2005 р., Україна, м. Київ, Оболонь, берег р. Дніпро, обростання ґрунту	<i>Flavobacterium</i> sp. <i>Pseudomonas</i> sp. <i>Rhodococcus erythropolis</i> <i>R. fasciens</i> Неіндіфікований-1 Неіндіфікований-2
<i>C. vulgaris</i> (шт. 716)	2018 р., Україна, Харківська обл., Зміївський р-н, урочище Сухий Лиман, канал, зарості моху	<i>Flavobacterium</i> sp. <i>Pseudomonas</i> sp. <i>Rhodococcus erythropolis</i> <i>R. fasciens</i> Неіндіфікований-1 Неіндіфікований-2
<i>Coelastrum rugosum</i> (P.G.Richt.) P.Tsarenko (шт. 212)	1995 р., Німеччина, Мекленбург-Передня Померанія, оз. Толлензе, планктон	<i>Pseudomonas aureofaciens</i> Неіндіфікований-4 Неіндіфікований-5 Неіндіфікований-6 Неіндіфікований-7 Неіндіфікований-8
<i>C. rugosum</i> (шт. 352)	1995 р., Ізраїль, долина Хула, водойма, планктон	<i>Pseudomonas aureofaciens</i> Неіндіфікований-4 Неіндіфікований-5 Неіндіфікований-6 Неіндіфікований-7 Неіндіфікований-8
<i>C. rugosum</i> (шт. 568)	2014 р., Україна, Черкаська обл., Лисянський р-н, смт Лисянка, р. Гнилий Тікич, планктон	<i>Pseudomonas aureofaciens</i> <i>Pseudomonas</i> sp. Неіндіфікований-4

		Неіндифікований-5 Неіндифікований-6 Неіндифікований-7 Неіндифікований-8
<i>Klebsormidium flaccidum</i> (Kütz.) Silva, Mattox et Blackwell (шт. 410)	2001 р., Україна, Львівська обл., ПЗ «Розточчя», лісовий ґрунт	<i>Rhodococcus erythropolis</i> Неіндифікований-9 Неіндифікований-10 Неіндифікований-11- Неіндифікований-12 Неіндифікований-13 Неіндифікований-14
<i>K. flaccidum</i> (шт. 411)	2007 р., Україна. Житомирська обл., м. Житомир, пам'ятка природи «Чотири брати», поверхня гранітних скель	<i>Rhodococcus erythropolis</i> Неіндифікований-9 Неіндифікований-10 Неіндифікований-11 - Неіндифікований-12 Неіндифікований-13 Неіндифікований-14
<i>K. flaccidum</i> (шт. 477)	1995 р., Німеччина, окол. Нідеркрюхтен, р-н Фірзен, бурякове поле, глинистий ґрунт	<i>Rhodococcus erythropolis</i> Неіндифікований-9 Неіндифікований-10 Неіндифікований-11 - Неіндифікований-12 Неіндифікований-13 Неіндифікований-14
<i>Tetradesmus dimorphus</i> (Turpin) M.J.Wynne (шт. 250)	1961 р., РФ, Кольський п-ів, ставок, планктон	<i>Flavobacterium</i> sp. <i>Acinetobacter</i> sp. <i>Curtobacterium</i> sp. <i>Microbacterium imperiale</i> <i>Rhodococcus erythropolis</i> <i>R. fasciens</i> Неіндифікований-15
<i>T. dimorphus</i> (шт. 251)	1975 р., Україна, Черкаська обл., м. Черкаси, Черкаське виробниче об'єднання «Азот», біоставок системи доочищення стічних вод, планктон	<i>Flavobacterium</i> sp. <i>Acinetobacter</i> sp. <i>Curtobacterium</i> sp. <i>Microbacterium imperiale</i> <i>Rhodococcus erythropolis</i> <i>R. fasciens</i> Неіндифікований-15

<i>Tetrademus dimorphus</i> (шт. 548)	2014 р., Україна, Чернігівська обл., Ніжинський р-н, оз. Ніжинське, планктон	<i>Flavobacterium</i> sp. <i>Acinetobacter</i> sp. <i>Curtobacterium</i> sp. <i>Microbacterium imperiale</i> <i>Rhodococcus erythropolis</i> <i>R. fasciens</i> Неідентифікований-15
--	--	--

Результати та обговорення

Характеристика 12 штамів 4 видів прісноводних та аерофітних водоростей, які відрізняються за часом ізолювання та місцезнаходженням, наведена в табл. 2.

Із вказаних культур прісноводних водоростей видів *Chlorella vulgaris*, *Coelastrum rugosum* і *T. dimorphus* та аерофітних *K. flaccidum* ізолювано 82 штами бактерій, які формують на живильному агарі (МПА) безбарвні, білі, кремові колонії, а також колонії різних відтінків жовтого, помаранчового та червоного кольору. На підставі дослідження їхніх фенотипових (морфолого-культуральних, тінкторіальних, хемотаксономічних і фізіолого-біохімічних) ознак, які мають діагностичне значення, 37 штамів ідентифіковано до роду та виду (див. табл. 1, 2). Здебільшого це види родів *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas* і *Rhodococcus*, представники яких є звичайними мешканцями планктону водойм різного типу, стічних вод, обростань ґрунтів, техногенних матеріалів, різь- та філосфери судинних рослин тощо (Glagoleva et al., 1992; Wasser et al., 1992; Borisova, Nogina, 1997; Kim et al., 2018). Решта поки ще неідентифікованих видів також чітко відрізняються між собою за фенотиповими ознаками.

Таблиця 3. Характеристика фенотипових ознак бактерій, ізолюваних із альгологічно чистих культур водоростей колекції IBASU-A

Вид бактерії	Фенотипові ознаки	Нумеричний код
<i>Chlorella vulgaris</i> Beij.		
<i>Flavobacterium</i> sp.	На МПА колонії жовтого кольору, плоскі, матові, напівпрозорі; клітини паличковидні, нерухомі, грам- та оксидазонегативні, крохмаль не гідролізують, глюкозу не окислюють і не ферментують	5184

<i>Pseudomonas</i> sp.	На МПА колонії безбарвні, опуклі, непрозорі; паличковидні, рухливі, грам- та оксидазо-негативні, крохмаль не гідролізують	1274
<i>Rhodococcus erythropolis</i>	На МПА колонії великі, кремового кольору, опуклі, блискучі, непрозорі; клітини паличковидні, іноді слабо розгалужені, розташовуються V-подібно, нерухомі, грам- та каталазопозитивні, крохмаль не гідролізують, аероби; діагностичними компонентами клітинної стінки є мезо-ДАПК, арабіноза, галактоза та міколові кислоти	3272
<i>R. fasciens</i>	На МПА колонії жовто-помаранчового кольору, з опуклим центром, шорсткі, непрозорі; клітини паличковидні з характерними загостреними кінцями, розташовуються V-подібно, нерухомі, грам- та каталазопозитивні, крохмаль не гідролізують, аероби; діагностичними компонентами клітинної стінки є мезо-ДАПК, арабіноза, галактоза та міколові кислоти	6272
Неіндифікований-1	На МПА колонії безбарвні, опуклі, непрозорі; клітини паличковидні, грам- та каталазопозитивні	1272
Неіндифікований-2	На МПА колонії світло жовтого кольору, опуклі, непрозорі; клітини паличковидні, грам- та каталазопозитивні	4271
Неіндифікований-3	На МПА червоного кольору, пласкі, грам- та оксидазо-негативні, крохмаль не гідролізують, ростуть слабо, дуже повільно	9164
<i>Coelastrum rugosum</i> (P.G.Richt.) P.Tsarenko		
<i>Pseudomonas aureofaciens</i>	На МПА колонії безбарвні, зморшкуваті, прозорі; клітини паличковидні, 1,5–2,5 мкм завдовжки, рухливі; грамнегативні та оксидазопозитивні, аероби, крім жовто-зеленого флуоресціюючого пігменту утворюють дифундуєчий бурий пігмент, крохмаль не гідролізують, утворюють аргінінгідролазу та левансахаразу, глюкозу окислюють, асимілюють інозит	1564
<i>Pseudomonas</i> sp.	На МПА колонії червоного кольору, великі, опуклі, непрозорі; клітини паличковидні, рухливі, грамнегативні, крохмаль не гідролізують; ростуть дуже повільно	9274

Неіндифікований-4	На МПА колонії безбарвні, опуклі, прозорі; клітини паличковидні, нерухомі, грам- та каталазопозитивні, крохмаль не гідролізують	1262
Неіндифікований-5	На МПА колонії світло жовтого кольору, опуклі, непрозорі; клітини паличковидні, грам- та каталазопозитивні, крохмаль не гідролізують, глюкозу не окислюють і не ферментують	4272
Неіндифікований-6	На МПА колонії жовтого кольору, опуклі, блискучі, прозорі; клітини паличковидні, грам- та каталазопозитивні	5261
Неіндифікований-7	На МПА колонії великі, кремового кольору; клітини паличковидні, грам- та оксидазонегативні, жовто-зеленого кольору, флуоресціюючий пігмент не утворюють, дифундууючий бурий пігмент утворюють, глюкозу не окислюють і не ферментують, крохмаль не гідролізують	3274
Неіндифікований-8	На МПА колонії кремового кольору, блискучі, слизисті; клітини паличковидні, грам- та каталазопозитивні, крохмаль не гідролізують	3292
<i>Klebsormidium flaccidum</i> (Kütz.) Silva, Mattox et Blackwell		
<i>Rhodococcus erythropolis</i>	На МПА колонії великі, кремового кольору, опуклі, блискучі, непрозорі; клітини паличковидні, іноді слабо розгалужені, розташовуються V-подібно, нерухомі; грам- та каталазопозитивні, крохмаль не гідролізують, аероби; діагностичними компонентами клітинної стінки є мезо-ДАПК, арабіноза, галактоза та міколові кислоти	3272
Неіндифікований-9	На МПА колонії безбарвні, опуклі, непрозорі; клітини паличковидні, рухливі, грамнегативні, утворюють дифундууючий темний пігмент	1274
Неіндифікований-10	На МПА колонії безбарвні, опуклі, блискучі, прозорі; клітини паличковидні, грам- та каталазопозитивні	1263
Неіндифікований-11	На МПА колонії світло жовтого кольору, опуклі, непрозорі, грам- та каталазопозитивні	4271
Неіндифікований-12	На МПА колонії жовтого кольору, опуклі, блискучі, прозорі, грам- та оксидазонегативні	5214

Неіндифікований-13	На МПА колонії білого кольору, опуклі, непрозорі; клітини паличковидні, нерухомі, грам- та каталазопозитивні, крохмаль не гідролізують	2272
Неіндифікований-14	На МПА колонії помаранчового кольору, плоскі, напівпрозорі; клітини паличковидні, грам- та каталазопозитивні, ростуть слабо, дуже повільно	6182
<i>Tetradesmus dimorphus</i> (Turpin) M.J. Wynne		
<i>Flavobacterium</i> sp.	На МПА колонії жовтого кольору, опуклі, блискучі, напівпрозорі; клітини паличковидні 0,5–2,0 та 5–10 мкм, нерухомі, грам- та оксидазонегативні, крохмаль не гідролізують, глюкозу не окислюють і не ферментують	5184
<i>Acinetobacter</i> sp.	На МПА колонії безбарвні, опуклі, напівпрозорі; клітини паличковидні, нерухомі, грам- та оксидазонегативні, крохмаль гідролізують, глюкозу не окислюють і не ферментують, окислюють ксиліозу та сахарозу	1283
<i>Curtobacterium</i> sp.	На МПА колонії лимонно-жовтого кольору, плоскі, блискучі, напівпрозорі; клітини паличковидні, розташовуються V-подібно, нерухомі, грам- та каталазопозитивні, крохмаль гідролізують, глюкозу не окислюють і не ферментують	4181
<i>Microbacterium imperiale</i>	На МПА колонії безбарвні, блискучі, з опуклим коричневим центром та напівпрозорим краєм; клітини паличковидні або дещо зігнуті, розташовуються V-подібно, рухливі, грам- та каталазопозитивні, у клітинній стінці не містять мезо-ДАПК таміколових кислот, крохмаль не гідролізують, глюкозу не окислюють і не ферментують, крохмаль гідролізують, окислюють ксиліозу та сахарозу	1311
<i>Rhodococcus erythropolis</i>	На МПА колонії великі, кремового кольору, опуклі, блискучі, непрозорі; клітини паличковидні, іноді слабо розгалужені, розташовуються V-подібно, нерухомі, грам- та каталазопозитивні, крохмаль не гідролізують, аероби; діагностичними компонентами клітинної стінки є мезо-ДАПК, арабіноза, галактоза та міколові кислоти	3272

<i>R. fasciens</i>	На МПА колонії жовто-помаранчового кольору, з опуклим центром, шорсткі, непрозорі; клітини паличковидні з характерними загостреними кінцями, розташовуються V-подібно, нерухомі, грам- та каталазопозитивні, крохмаль не гідролізують, аероби; діагностичними компонентами клітинної стінки є мезо-ДАПК, арабіноза, галактоза та міколові кислоти	6272
Неіндифікований-15	На МПА колонії маленькі рожево-малинового кольору, опуклі, напівпрозорі або непрозорі, блискучі; клітини паличковидні, дуже поліморфні, розташовуються V-подібно, нерухомі, грам- та каталазопозитивні, крохмаль гідролізують, ростуть слабо, дуже повільно	8281

За результатами мікробіологічного аналізу визначено чотири типи комплексів бактеріальних консортів, які містять не більше 7 видів. Аналогічний результат, наявність в середньому 7 видів гетеротрофних мікроорганізмів у культурах водоростей, одержано китайськими вченими при дослідженні бактеріальних угруповань (комплексів), асоційованих з морськими дінофлагелятами (*Dinoflagellata*) молекулярно-біологічними методами (Deng et al., 2022).

Для комплексів бактеріальних консортів виявлених типів характерною була наявність двох грамнегативних та п'яти грампозитивних видів, а також приблизно таке саме співвідношення рухливих та нерухомих форм. Набори видів у комплексах зовнішньо виглядали дуже подібно, тому що включали бактерії, які формують колонії, на перший погляд, однакових кольорів (кремових, жовтих, рожевих, червоних) та безбарвних. Ця проблема була вирішена завдяки використанню модифікованої схеми нумеричної системи морфологічної оцінки бактеріальних колоній та цифровому кодуванню їхніх характерних фенотипових ознак (табл. 1, 3, 4).

Значимість цих ознак для попереднього розмежування ізольованих чистих бактеріальних культур надалі була підтверджена ідентифікацією низки штамів бактеріальних консортів до виду або роду хемотаксономічними методами.

За видовим складом комплекси видів виявилися специфічними для культур кожного досліджуваного виду, а саме: *Chlorella vulgaris*, *Coelastrum rugosum*, *Klebsormidium flaccidum* і *Tetradesmus dimorphus* (табл. 2), що свідчить про приуроченість бактеріальних консортів до

автотрофного детермінанту консорції та підтверджує консортивний характер альгобактеріальних угруповань взагалі.

Таблиця 4. Комплекси видів бактеріальних консортів за нумеричною системою морфологічної оцінки бактеріальних колоній

Таксон	Комплекси бактеріальних консортів, нумеричний код видів						
<i>Chlorella vulgaris</i> Beij.	1272	1274**	3272*	4271	5184**	6272*	9164
<i>Coelastrum rugosum</i> (P.G.Richt.) P.Tsarenko	1264	1564*	3274	3292	4272	5261	9274**
<i>Klebsormidium flaccidum</i> (Kütz.) Silva, Mattox et Blackwell	1263	1274**	2272	3272*	4271	5214	6182
<i>Tetradesmus dimorphus</i> (Turpin) M.J.Wynne	1283**	1311*	3272*	4181**	5184**	6272*	8281

Примітка: * – штам ідентифіковано до виду, ** – до роду.

Однією з характерних рис досліджуваних альгобактеріальних консорцій є сталість кількісного та якісного складу бактеріальних консортів, які залишаються незмінними за умов лабораторного культивування та колекційного зберігання альгологічно чистих культур водоростей. Як відомо, культури водоростей зберігаються в колекціях із використанням різних методів, зокрема шляхом підтримки у вегетативному стані на рідких мінеральних живильних середовищах з періодичним пересівом, які здійснюються кожні 2–4 місяця залежно від таксономічної приналежності. Таким чином можна провести мікробіологічний аналіз кожної альгологічно чистої культури. Для підтвердження цього вже проведено аналіз 45 культур штамів водоростей біотехнологічного застосування із колекції IBASU-A, представників родин *Dunaliellaceae*, *Chlorellaceae*, *Scenedesmaceae*, *Selenastraceae* (Borysova, Tsarenko, 2021).

Другою суттєвою рисою є наявність в комплексах бактеріальних консортів видів, які домінують в залежності від різних (лаг-фази, логарифмічної, стаціонарної) фаз росту культури за умов нормального вирощування водоростей, а також у присутності токсичних речовин (продуктів органічного синтезу) (Borysova et al., 2000; Borysova, Tyberkevych, 2001).

Отже, ці специфічні риси є відправними показниками для майбутніх досліджень та практичного використання водоростевих культур як

модельних об'єктів для вивчення якісного та кількісного складу інших альгобактеріальних угруповань у природі та в лабораторних умовах, досліджень особливостей їхньої структури та функцій, трофічних зв'язків, взаємодії авто- та гетеротрофних компонентів, впливу інвазійних видів тощо, а також розробки нових технологій в різних галузях промисловості, медицини, біоремедіації та екологічної біотехнології.

Висновки

Уперше із використанням консортивного підходу визначено кількісний та якісний склад гетеротрофних бактерій, що розвиваються в альгологічно чистих культурах мікроводоростей різних видів, штами яких відрізняються за місцезнаходженням та часом ізолювання. Одержані результати показали, що в усіх культурах водоростей кількісний склад бактеріальних консортів є однаковим і включає 7 видів бактерій. Якісний склад також є однаковим, але тільки в межах альгологічно чистих культур штамів одного певного виду водоростей і чітко відрізняється від якісного складу бактеріальних консортів інших видів. Хоча деякі бактеріальні види відзначаються у складі декількох видів водоростей. Це вказує на приуроченість гетеротрофних бактерій до певних видів автотрофних водоростей як детермінантів різних консорцій та підтверджує консортивний характер альгобактеріальних угруповань взагалі. Специфічними рисами альгобактеріальних консорцій є сталість кількісного та якісного складу бактеріальних консортів, яка залишається незмінною за умов лабораторно культивування та колекційного зберігання альгологічно чистих культур, а також наявність домінуючих видів бактеріальних консортів. Вони є відправними показниками для майбутніх досліджень та практичного використання водоростевих культур як модельних об'єктів.

Список літератури

- Algal culturing techniques*. 2005. Ed. R.A. Andersen. Amsterdam: Elsevier Acad. Press. 578 p.
- Bergey's manual of determinative bacteriology*. 9th ed. Vol. 1. 1984. Baltimore: Williams & Wilkins Co. 945 p.
- Bischoff H.W., Bold H.C. 1963. Phycological studies. IV. Some soil algae from Enchanted Rock and related algal species. *Univ. Texas Publ.* 6318: 1–95.
- Borisova E.V. 2000. Species composition of bacteria accompanying microalgae in culture (review of literature). *Int. J. Algae*. 2(4): 115–126.
- Borisova E.V., Nogina T.M. 1997. Bacteria from the genus of *Rhodococcus*, accompanying green algae in nature and culture. *Hydrobiol. J.* 33(3): 44–50. [Борисова Е.В., Ногина Т.М. 1997.

- Бактерии рода *Rhodococcus*, сопутствующие зеленым водорослям в природе и при лабораторном культивировании. *Гидробиол. журн.* 33(3): 44–50].
- Borysova O.V., Tsarenko P.M., Konishchuk M.O. 2014. *Microalgae Culture Collection IBASU-A*. Kyiv. 110 p. [Борисова О.В., Царенко П.М., Коніщук О.М. 2014. *Колекція культур мікроводоростей IBASU-A*. Київ. 110 с.].
- Borysova O.V., Tsarenko P.M. 2021. Some strains from microalgae collection IBASU-A (Ukraine) as an object of biotechnology. *Algologia*. 31(4): 390–405. [Борисова О.В., Царенко П.М. 2021. Штами колекції IBASU-A– об'єкти біотехнології. *Альгологія*. 31(4): 390–405]. <https://doi.org/10.15407/alg31.04.390>
- Borysova O.V., Tyberkevych N.Ya. 2001. Some characteristics of developing of bacterial consort in the *Scenedesmus acutus* Meyen IBASU-A 251 culture. *Sci. Not. Ternop. Ped. Volodymyr Hnatiuk Univ. Ser. Hydroecology*. 4(15): 69–71. [Борисова О.В., Тиберкевич Н.Я. 2001. Особенности развития бактерий-спутников в процессе роста культуры водорости IBASU-A 251. *Наук. зап. Терноп. пед. ун-ту імені Володимира Гнатюка. Сер. Гідроекологія*. 4(15): 69–71].
- Borisova E.V., Nogina T.M., Stupina V.V. 2000. Bacteria accompanying *Scenedesmus acutus* Meyen in laboratory cultures. *Int. J. Algae*. 2(2): 113–121. <https://doi.org/10.1615/InterJAlgae.v2.i2.110>
- Dedysh S.N., Zenova G.M., Dobrovolskaya T.G., Gracheva T.A. 1992. Structure of algocenoses forming in the period of soil blume. *Algologia*. 2(4): 63–69. [Дедыш С.Н., Зенова Г.М., Добровольская Т.Г. 1992. Структура альгоценозов, формирующихся в период «цветения» почвы. *Альгологія*. 2(4): 63–69].
- Deng Y., Wang K., Hu Z., Tang Y.Z. 2022. Abundant species diversity and essential functions of bacterial communities associated with dinoflagellates as revealed from metabarcoding sequencing for more than 100 laboratory-raised clonal cultures, with a possible enrichment of methylotrophs. *Int. J. Environ. Res. Publ. Health*. 19. <https://doi.org/10.3390>
- Glagoleva O.B., Zenova G.M., Dobrovolskaya T.G. 1992. *Algologia*. 2(4): 57–63. [Глаголева О.Б., Зенова Г.М., Добровольская Т.Г. 1992. Взаимодействие водорослей и бактерий спутников в ассоциативных культурах. *Альгологія*. 2(2): 57–63].
- Kim B.-H., Ramanan R., Cho R.-H., Oh H.-M., Kim H.-M. 2014. Role of Rhizobium, a plant growth promoting bacterium, in enhancing algal biomass through mutualistic interaction. *Biomass, Bioenergy*. 69: 95–105.
- Kotsoflyak O.I., Reva O.N., Kiprianova E.A., Smirnov V.V. 2003. Identification of the *Pseudomonas* genus. *Microbiol. J.* 63(6): 3–11. [Коцофляк О.И., Рева О.Н., Киприанова Е.А., Смирнов В.В. 2003. Идентификация бактерий рода *Pseudomonas* методами компьютерного анализа. *Мікробіол. журн.* 63(6): 3–11].
- Labinskaya A.S. 1972. *Microbiology with techniques of microbiological studies*. Moscow: Medicine. 479 p. [Лабинская А.С. 1972. *Микробиология с техникой микробиологических исследований*. М.: Медицина. 479 с.].

- Lechevalier P.M. 1986. Identification of aerobic actinomycetes of clinical importance. *Lab. Clin. Med.* 71(6): 934–944.
- Minikin D.E., Alshmaony L., Goodfellow M. 1975. Determination of *Mycobacterium*, *Nocardia* and related taxa. *J. Gen. Microbiol.* 88(1): 200–204.
- Nemtsova N.V., Gogoleva O.A., Ignatenko M.E. 2018. Biomedical potential of algo-bacterial symbioses. *J. Mikrobiol.* 4: 82–87. [Немцева Н.В., Гоголева О.А., Игнатенко М.Е. 2018. Биомедицинский потенциал альго-бактериальных симбиозов. *Журн. микробиол.* 4: 82–87].
- Nesterenko O.A., Kvasnikov E.I., Nogina T.M. 1985. *Nocardia- and corynelikebacteria*. Kyiv: Naukova Dumka. 336 p. [Нестеренко О.А., Ногина Т.М., Квасников Е.И. *Нокардиоподобные и коринеподобные бактерии*. Киев: Наук. думка. 336 с.].
- Nogina T.M., Varbanetz L.D., Nesterenko O.A. 1989. Amino acid composition of peptidoglycans isolated by different methods from corinefors. *Microbiol. J.* 51(3): 16–19. [Ногина Т.М., Варбанец Л.Д., Нестеренко О.А. 1989. Аминокислотный состав пептидогликанов, выделенных различными методами из клеток коринеподобных бактерий. *Микробиол. журн.* 51(3): 16–19].
- Rabotnov N.A. 1978. *Phytoecology*. Moscow: Moscow State Univ. Press. 384 p. [Работнов Н.А. 1978. *Фитоценология*. М.: Изд-во МГУ. 384 с.].
- Smirnov V.V., Kiprianova E.A. 1990. *Bacterium of the genus Pseudomonas*. Kyiv: Nauk. Dumka. 264 p. [Смирнов В.В., Киприанова Е.А. 1990. *Бактерии рода Pseudomonas*. Киев: Наук. думка. 264 с.].
- Soeder C.J., Hegewald E. 1988. *Scenedesmus*. In: *Microalgal biotechnology*. Cambridge: Cambridge Univ. Press. Pp. 58–84.
- Swiatecki A., 1988. A numerical system for morphological evaluation. *Rocz. PZH.* 39(3): 223–225.
- Wasser S.P., Lenova L.I., Tsarenko P.M., Stupina B.B., Borisova E.V. 1992. Surface damage of polymeric material by algo-bacterial communities. *Algologia.* 2(2): 95–102. [Вассер С.П., Ленова Л.И. Царенко П.М., Ступина В.В., Борисова Е.В. *Альгология*. 2(2): 95–102].
- Zenova G.M., Kalakutskaya A.N. 1993. Characteristics of algal and bacterial component of algalbacterialcenoses on outlets of carbonate rocks. *Microbiology.* 62(1): 156–162. [Зенова Г.М., Калакуцкая А.Н. 1993. Характеристика водорослевого и бактериального компонента альгобактериальных ценозов на выходах карбонатных пород. *Микробиология*. 62(1): 156–162].
- Zenova G.M., Shtina E.A., Dedysh S.N., Glagoleva O.B., Likhacheva A.A., Gracheva T.A. 1995. Ecological interactions of algae in biocenoses. *Microbiology.* 64(2): 149–164. [Зенова Г.М., Штина Э.А., Дедыш С.Н., Глаголева О.Б., Лихачева А.А., Грачева Т.А. 1995. Экологические связи водорослей в биоценозах. *Микробиология*. 64(2): 149–164.

Підписав до друку П.М. Царенко

Borysova O.V. 2022. **Algal cultures as a model object of studding algal-bacterial communities (consortia)**. *Algologia*. 32(2): 167–183

M.G. Kholodny Institute of Botany NAS of Ukraine,
2 Tereshchenkivska Str., Kyiv 01601, Ukraine

An information on the results of the microbiological analysis of xenic cultures of green (*Chlorophyta*) and charophytes (*Charophyta*) algae is given. Algal xenic cultures are regarded as communities (consortia) of heterogeneous organisms connected with each other by trophic and topic interactions and composed of a center nucleus (autotrophic algae of one species) and consorts (several species of heterotrophic bacteria). Twelve algal xenic cultures of freshwater (*Chlorella vulgaris* Beij., *Coelastrum rugosum* (P.G. Richt., *Tetrademus dimorphus* (Turpin) M.J.Wynne) and aerophitic (*Klebsormidium flaccidum* (Kütz.) Silva, Mattox et Blackwell) algae from the collection of M.G. Kholodny Institute of Botany NAS of Ukraine were used in investigations. Each species was represented by three strains isolated in 1961–2018 years from the territories of Ukraine and other countries of Eurasia. Overall, 82 bacterial strains were isolated and identified according to some phenotypic (morphological, chemotaxonomic, physiological and chemical) features. The study revealed complexes of four types which consisted 7 species of bacterial consorts. A qualitative composition of complexes was the same in cultures (strains) of one certain algal species but strictly different in cultures of another algal species. Although, some bacterial species were found in several complexes of different type. It is evident a tight association the heterotrophic bacterial consorts with the autotrophic determinant of consortia and conforms the consortium character of algal-bacterial communities in general. It was proposed an express method based on the use of a numerical system for morphological evaluation of bacterial colonies in preliminary study peculiarities, features and functions of consortia.

Key words: collection IBASU-A, xenic algal cultures, algal-bacterial communities, consortia, bacterial consorts