

Том 31
4•2021

АЛГО
ЛОГІЯ

МІЖНАРОДНИЙ
НАУКОВО-ТЕХНІЧНИЙ
ЖУРНАЛ

ALGOLOGIA

ЗАСНОВАНИЙ У БЕРЕЗНІ 1991 р. • ВИХОДИТЬ 1 РАЗ НА ТРИ МІСЯЦІ • КИЇВ

ЗМІСТ

Морфологія, анатомія, цитологія

- 299 Щербак В.І., Генкал С.І., Семенюк Н.С. Динаміка перифітону *Bacillariophyta* на різних етапах експлуатації водойми-охолоджувача Чорнобильської АЕС (Україна)

Фізіологія, біохімія, біофізика

- 320 Царенко П.М., Заїменко Н.В., Дідик Н.П., Елланська Н.Е., Павлюченко Н.А., Іваницька Б.О., Юношева О.П., Демченко Е.М. Вплив культуральної рідини *Interfillum terricola* (J.B. Petersen) Mikhailyuk et al. (*Charophyta*) на алелопатичні, мікробіологічні, агрофізичні та агрохімічні властивості ґрунту
- 337 Поліщук О.В. Роль карбоангідраз у механізмах концентрування карбону водних фотоавтотрофів
- 353 Чернобай Н.А., Возовик К.Д., Каднікова Н.Г. Порівняльний аналіз методів оцінки збереженості культур мікроводоростей *Dunaliella salina* Teodoresco та *Chlorococcum dissectum* Korshikov (*Chlorophyta*) після впливу стрес-факторів

Екологія, ценологія, охорона та роль водоростей у природі

- 365 Брянцева Ю.В. Особливості сезонної сукцесії фітопланктону в прибережній зоні Криму (Чорне море) у різні за кліматичними умовами роки (2009–2014)

Нові та рідкісні таксони

- 382** Генкал С.І., Трифонова І.С. Нові дані до флори *Centrophyceae* (*Bacillariophyta*)
Невської губи (Росія)

Прикладна альгологія

- 390** Борисова О.В., Царенко П.М. Штами колекції мікроводоростей IBASU-A –
об'єкти біотехнології
- 406** Показчик статей, надрукованих у 2021 році

Наукові редактори випуску:

ЗОЛОТАРЬОВА О.К., КОМУЛАЙНЕН С.Ф., МІНІЧЕВА Г.Г.,
СЕМЕНЮК Н.С., ЦАРЕНКО П.М.

Редактори

В.В. Несчетна, О.С. Бондаренко

Адреса редакції: 01601 Київ, вул. Терещенківська, 2,
Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАНУ, тел. 235-13-11

Address of the Editorial Office: M.G. Kholodny Institute of Botany, NAS of Ukraine,
2 Tereshchenkivska Str., Kyiv 01601, tel. 235-13-11

e-mail: algologia@ukr.net

сайт: www.algologia.co.ua

Оригінал-макет виготовлено в редакції журналу «Альгологія»

Номер реєстраційного свідоцтва КВ-№ 21246-ІІ/046ПР від 27.02.2015

Затверджено до друку вченою радою Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАНУ
(протокол № 14 від 16 листопада 2021 р.)

Підп. до друку 30.11.2021. Формат 70×108/16. Ум.-друк. арк. 9,8. Обл.-вид. арк. 13,72.
Тираж 93 прим. Зам. №

Віддруковано ВД «Академперіодика» НАН України, вул. Терещенківська, 4, Київ 01024

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 544 від 27.07.2001

**Динаміка перифітону *Bacillariophyta* на різних етапах
експлуатації водойми-охолоджувача Чорнобильської АЕС
(Україна)**

Щербак В.І.¹, Генкал С.І.², Семенюк Н.Є.¹

¹ Інститут гідробіології НАН України,
просп. Героїв Сталінграда, 12, Київ 04210, Україна
ek424nat@ukr.net, natasemenyuk@gmail.com

² Інститут біології внутрішніх вод ім. І.Д. Папаніна РАН,
сел. Борок, буд. 109, Некоузський р-н, Ярославська обл. 152742, Росія
genkal@ibiw.ru

Надійшла до редакції 23.02.2021. Після доопрацювання 07.06.2021. Підписана до друку 14.06.2021.
Опублікована 22.12.2021

Реферат. Вивчена багаторічна динаміка таксономічного складу діатомового перифітону водойми-охолоджувача Чорнобильської АЕС (ВО ЧАЕС) у різні періоди її експлуатації: доаварійний, післяаварійний і сучасний. Показано, що найбільша різноманітність домінуючого комплексу діатомей виявлена в післяаварійний період, що пояснюється зниженням температури води і появою нових біотопів. Великомасштабне спрацювання рівня водойми-охолоджувача в сучасний період призвело до зменшення площі водного дзеркала і зниження різноманітності біотопів, що зумовило скорочення кількості домінуючих видів *Bacillariophyta*. Вивчення сучасного таксономічного складу фітоперифітону ВО ЧАЕС за допомогою світлової та скануючої електронної мікроскопії дозволило виявити 141 вид діатомових водоростей, представлених 143 внутрішньовидовими таксонами, враховуючи ті, що містять номенклатурний тип виду, з 45 родів, 20 родин, 12 порядків і 3 класів. Новими для флори України є 14 видів і різновидів *Bacillariophyta* з родів *Amphora* Ehrenberg, *Gomphonema* Ehrenberg, *Hippodonta* Lange-Bertalot, Witkowski et Metzeltin, *Karayevia* Round, *Bukhtiyarova* ex Round, *Navicula* Bory, *Placoneis* Mereschkowsky, *Planothidium* Round et Bukhtiyarova, *Psammothidium* Bukhtiyarova & Round і *Sellaphora* Mereschkowsky. Встановлено, що підвищене забруднення ВО ЧАЕС техногенними радіонуклідами ⁹⁰Sr, ¹³⁷Cs і великомасштабне спрацю-

вання рівня води не викликало істотної деградації діатомового фітоперифітону, який і в нових екологічних умовах характеризується високим таксономічним багатством і просторовою гетерогенністю.

Ключові слова: *Bacillariophyta*, фітоперифітон, водойма-охолоджувач Чорнобильської АЕС, Україна, скануюча електронна мікроскопія

Вступ

Важливим компонентом автотрофної ланки водойм-охолоджувачів атомних електростанцій (ВО АЕС) є мікроскопічні водорості фітообростань (фітоперифітон). Відомо, що в таксономічному складі фітоперифітону провідне місце належить *Bacillariophyta*, які в основному представлені пеннатними формами (Kulikovskiy et al., 2016; Semenyuk, Shcherbak, 2016; Shcherbak et al., 2019). Висока різноманітність діатомей пояснюється тим, що незалежно від типу, походження та періоду експлуатації водойми-охолоджувача, в ньому представлена велика кількість твердих субстратів – від облицювання скидних каналів (підігрітих вод), водозабірних каналів (охолоджених вод, що надходять із джерел водозабору), різних дамб, відкосів до вищої водної рослинності. Вважаємо, що таксономічне, кількісне різноманіття, структура ценозів *Bacillariophyta* ВО АЕС суттєво залежать від впливу різних антропогенних чинників. Основними з них є:

- радіонуклідне забруднення техногенними ізотопами ^{137}Cs , ^{90}Sr ;
- теплове забруднення, зумовлене скиданням у ВО підігрітих вод з енергетичних блоків АЕС;
- великомасштабний гідротехнічний вплив, що проявляється в значному спрацюванні рівня ВО.

Прикладом впливу кожного з цих чинників є багаторічна експлуатація ВО ЧАЕС від введення її в дію до сучасного періоду (1978–2018).

Мета роботи – дослідити багаторічну динаміку таксономічного складу діатомового перифітону ВО ЧАЕС у різні періоди її експлуатації.

Матеріали та методи

Водойма-охолоджувач Чорнобильської АЕС – штучно створена екосистема, розташована в заплаві р. Прип'ять. Її береги сформовані захисною дамбою довжиною 25 км, шириною 70–100 м і висотою 5,7 м. До великомасштабного спрацювання рівня ВО ЧАЕС її довжина становила 11 км, середня ширина 2 км, площа 22,7 км², глибина 4–7 м, а на окремих ділянках – 18–20 м, об'єм 149 млн м³. Рівень води у водоймі становив 110,2 м Бс і залишався в цих межах і після виведення АЕС з експлуатації

(Gudkov et al., 2018; Bugai et al., 2019) (рис. 1, а). У травні 2014 р. були відключені насоси, які закачували воду до ВО з р. Прип'ять, і почалося зниження рівня води у водоймі (Gudkov et al., 2018). Влітку 2016 р. рівень знизився на 4 м. Осушена зона дна ВО ЧАЕС досягла 40% початкового водного дзеркала (Gudkov et al., 2018; Bugai et al., 2019). Дана ситуація збереглася й на сьогодні (рис. 1, б).

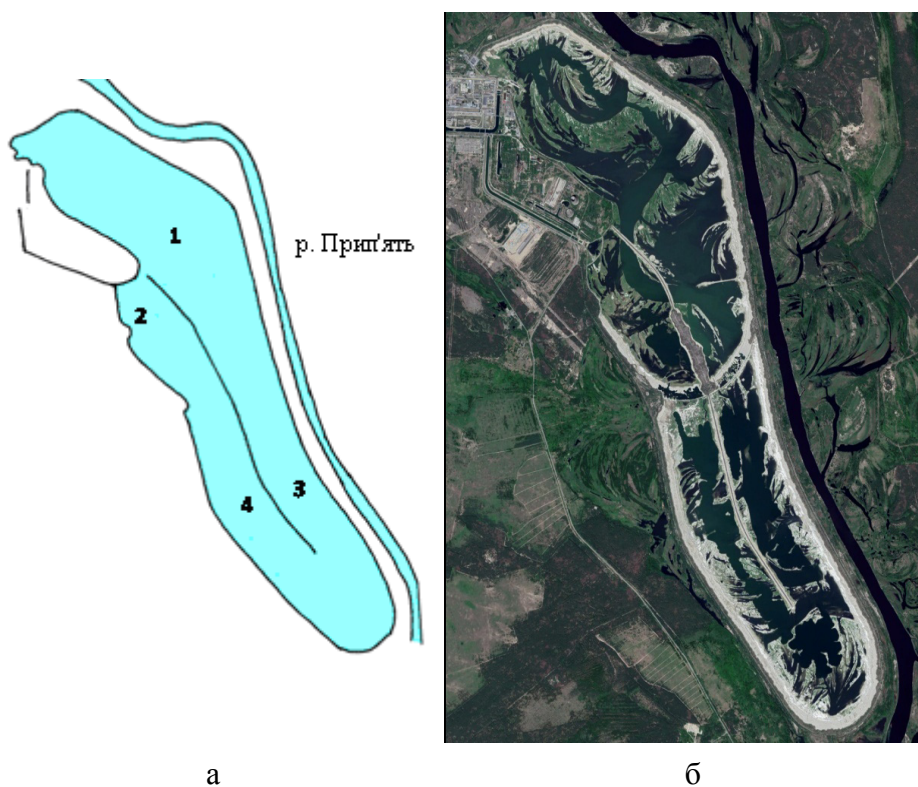


Рис. 1. Водойма-охолоджувач ЧАЕС (Gudkov et al., 2018): а – карта-схема до великомасштабного спрацювання рівня (1 – північно-східна частина, 2 – північно-західна, 3 – південно-східна, 4 – південно-західна); б – космічний знімок ВО ЧАЕС після спрацювання рівня води (Google Earth © у травні 2018 р.)

Дослідження фітоперифітону ВО ЧАЕС проводили після великомасштабного спрацювання рівня води (вегетаційні сезони 2016–2018 рр.). Проби водоростей відбирали з кам'яних і деревних субстратів на станціях спостереження, розташованих у північно-східній, північно-західній, південно-східній і південно-західній частинах водойми (Shcherbak et al., 2018). Таксономічний склад водоростей визначали під світловим мікроскопом МББ-1А з окуляром 7×, імерсійним об'єктивом 90× (Semenyuk, Shcherbak, 2016).

Для уточнення таксономічного складу діатомей готували постійні препарати діатомових водоростей методом холодного спалювання (Genkal, 1993) й досліджували їх у скануючому електронному мікроскопі JSM-25S.

Використовували сучасні визначники і систематичні зведення по *Bacillariophyta*: 1997a, b, 2000, 2002, 2003; Krammer, Lange-Bertalot, 1986, 1988, 1991a, b; Krammer, Moser, 1994; Lange-Bertalot, Genkal, 1999; Reichardt, 1999; Lange-Bertalot, 2001; Levkov, 2009; Lange-Bertalot et al., 2011, 2017; Levkov et al., 2013, 2016; Genkal et al., 2015; Kulikovskiy et al., 2016; Genkal, Yarushina, 2018. До домінуючих і субдомінуючих видів відносили види, чисельність або біомаса яких становила не менше 5% загальних кількісних показників проби фітоперифітону.

Результати та обговорення

Аналіз літературних даних дозволив виділити кілька періодів експлуатації ВО ЧАЕС з відповідним таксономічним складом діатомей.

Доаварійний період водойми-охолоджувача був представлений 426 видами водоростей, значну частину яких (до 53–59%) формували *Bacillariophyta* (Калениченко, 1991). Найбільшою таксономічною різноманітністю характеризувалися *Pennatophyceae*, порядки *Fragilariales* і *Naviculales* з домінуванням видів родів *Navicula* Bory, *Gomphonema* Ehrenberg, *Achnanthes* Bory, *Cymbella* C.Agardh, *Nitzschia* Hassall. Найбільшу кількість видів виявлено на ділянках з температурою води 21,2–22,8 °С (північно-східна і південно-східна частини), а найменшу – в північно-західній частині, що знаходиться під впливом підігрітих вод, які надходять з потокорозподільчої дамби, температура яких в літній період могла досягати +34 °С (Калениченко, 1991). Домінуючий комплекс був представлений 14 видами (табл. 1).

Таблиця 1. Домінуючий комплекс діатомей фітоперифітону ВО ЧАЕС на різних етапах її експлуатації

Вид-домінант	Період експлуатації ВО ЧАЕС		
	доаварійний (1978–1985) ¹	посляаварійний (1994–1999) ^{2, 3}	сучасний (2016–2018) ⁴
<i>Stephanodiscus hantzschii</i> Grunow	–	–	+
<i>Melosira varians</i> C.Agardh	+	+	–
<i>Aulacoseira granulata</i> (Ehrenberg) Simonsen	+	–	–
<i>Aulacoseira italica</i> (Ehrenberg) Simonsen	–	+	–
<i>Diatoma vulgare</i> Bory	+	+	–
<i>Fragilaria vaucheriae</i> (Kützinger) J.B.Petersen	+	–	–

<i>Ulnaria ulna</i> (Nitzsch) Compère	+	+	–
<i>Ulnaria contracta</i> (Østrup) E.A.Morales & M.L.Vis	–	+	–
<i>Fragilariforma virescens</i> (Ralfs) D.M.Williams & Round	+	–	–
<i>Staurosira binodis</i> (Ehrenberg) Lange-Bertalot	–	–	+
<i>Staurosira construens</i> Ehrenberg	–	–	+
<i>Navicula antonii</i> Lange-Bertalot	–	–	+
<i>Navicula capitatoradiata</i> H.Germain ex Gasse	–	+	–
<i>Navicula cryptocephala</i> Kützinger	+	+	–
<i>Navicula tripunctata</i> (O.F.Müller) Bory	+	+	+
<i>Navicula veneta</i> Kützinger	–	+	–
<i>Gyrosigma acuminatum</i> (Kützinger) Rabenhorst	–	+	–
<i>Gyrosigma strigilis</i> (W.Smith) Cleve	–	–	+
<i>Gomphoneis olivaceum</i> (Hornemann) Brébisson	–	–	+
<i>Gomphonema constrictum</i> var. <i>capitatum</i> (Ehrenberg) Grunow	–	+	–
<i>Gomphonema micropus</i> Kützinger	–	+	–
<i>Gomphonema parvulum</i> (Kützinger) Kützinger	–	+	–
<i>Gomphonema truncatum</i> Ehrenberg	–	+	–
<i>Encyonema elginense</i> (Krammer) D.G.Mann	–	+	–
<i>Encyonema leibleinii</i> (C.Agardh) W.J.Silva, R.Jahn, T.A.V.Ludwig & M.Menezes	+	–	–
<i>Encyonema minutum</i> (Hilse) D.G.Mann	–	+	–
<i>Encyonema prostratum</i> (Berkeley) Kützinger	–	–	+
<i>Encyonema ventricosum</i> (C.Agardh) Grunow	–	+	–
<i>Cymbella affinis</i> Kützinger	–	+	–
<i>Cymbella cymbiformis</i> C.Agardh	+	–	+
<i>Cymbella helvetica</i> Kützinger	–	+	–
<i>Cymbella lanceolata</i> C.Agardh	–	+	–
<i>Cymbella subcistula</i> Krammer	–	–	+
<i>Cymbella tumida</i> (Brébisson) Van Heurck	–	+	–
<i>Amphora ovalis</i> (Kützinger) Kützinger	–	+	–
<i>Cocconeis pediculus</i> Ehrenberg	–	+	+

<i>Cocconeis placentula</i> Ehrenberg	–	+	–
<i>Cocconeis placentula</i> var. <i>euglypta</i> (Ehrenberg) Grunow	–	+	–
<i>Achnanthes gibberula</i> Grunow	–	+	–
<i>Lemnicola exigua</i> (Grunow) Kulikovskiy, Witkowski & Plinski	+	–	–
<i>Rhopalodia gibba</i> (Ehrenberg) O.Müller	–	+	–
<i>Epithemia adnata</i> (Kützing) Brébisson			+
<i>Epithemia sorex</i> Kützing	–	+	+
<i>Nitzschia dissipata</i> (Kützing) Rabenhorst	+	–	–
<i>Nitzschia intermedia</i> Hantzsch ex Cleve & Grunow	–	+	–
<i>Nitzschia kuetzingiana</i> Hilse	–	+	–
<i>Nitzschia palea</i> (Kützing) W.Smith	+	+	–
<i>Nitzschia paleacea</i> (Grunow) Grunow	–	+	–
<i>Nitzschia subtilis</i> (Kützing) Grunow	–	+	–
<i>Surirella librile</i> (Ehrenberg) Ehrenberg	+	–	–

Примітка. Домінуючий комплекс діатомей фітоперифітону в до- і післяаварійний періоди за даними: 1 – Kalenichenko, 1991; 2 – Shevchenko, Klenus, 1997; 3 – Shevchenko, 2004; 4 – за оригінальними даними.

Радіоактивність води становила: ^{137}Cs – 0,04 Бк/дм³, ^{90}Sr – 0,002 Бк/дм³ (Kaglyan et al., 2019).

Післяаварійний період. Домінуючий комплекс діатомового перифітону був представлений 33 видами (Shevchenko, Klenus, 1997, Shevchenko, 2004, табл. 1). Збільшення різноманітності діатомей можна пояснити тим, що в післяаварійний період кількість експлуатованих блоків зменшилася. Це призвело до зниження максимальних температур, які в літні місяці в районі скидання підігрітої води через потокорозподільчу дамбу не перевищували 29,2–29,8 °C (Shcherbak, 1999), також зменшилася площа підігрітих вод. Після повного виведення ЧАЕС з експлуатації (2000 р.) температура у водоймі-охолоджувачі урівноважилася і стала відповідати природній, а кількість біотопів з різною температурою відповідно зменшилася. Радіоактивний фон у цей час був досить високим: ^{137}Cs – 1,59–2,21 Бк/дм³, ^{90}Sr – 1,00–2,84 Бк/дм³ (Kaglyan et al., 2019).

Сучасний період. Дослідження, проведені нами після великомасштабного спрацювання рівня 2016–2018 рр., показали, що температура води відповідала природній і в літні місяці не перевищувала 25,9–26,3 °C, а

радіонуклідне забруднення стабілізувалося на більш низькому рівні: ^{137}Cs – до 0,95 Бк/дм³, ^{90}Sr – до 0,94 Бк/дм³ (Kaglyan et al., 2019).

Вважаємо, що великомасштабне спрацювання рівня води призвело до зниження кількості біотопів та їх різноманітності, що зумовило зменшення кількості домінантів і субдомінантів, які на даний час представлені 13 видами (див. табл. 1).

Порівняльний аналіз домінуючих комплексів фітоперифітону в різні періоди експлуатації ВО ЧАЕС показав їхні істотні відмінності. Коефіцієнт Серенсена K_S у різні періоди становив 0,13–0,26. Максимальна схожість ($K_S = 0,26$) зареєстрована для водоростевих угруповань у доаварійний (1978–1985) та післяаварійний періоди (1994–1999). Найбільшою специфічністю відрізнявся фітоперифітон у сучасний період (2016–2018). Коефіцієнт Серенсена між доаварійним і сучасним періодами становив 0,15, а між післяаварійним і сучасним – 0,13. Отже, великомасштабне спрацювання рівня води призвело до істотної перебудови фітоперифітону ВО ЧАЕС.

Всього за 2016–2018 рр. у фітоперифітоні ВО ЧАЕС виявлено 141 вид діатомей, представлений 143 внутрішньовидовими таксонами, враховуючи ті, що містять номенклатурний тип виду, які відносяться до 45 родів, 20 родин, 12 порядків і 3 класів: *Coscinodiscophyceae*, *Fragilariophyceae*, *Bacillariophyceae* (табл. 2). Список *Bacillariophyta*, виявлених у фітоперифітоні ВО ЧАЕС у 2016–2018 рр., наведений нижче.

Основу таксономічного різноманіття формували *Bacillariophyceae* – 30 родів і 112 видів (79% загальної кількості видів). Найбільшою кількістю видів представлені порядки *Naviculales* (41 вид, 29%), *Cymbellales* (34 види, 24%), *Achnanthes* (18 видів, 13%), а на рівні родин основу фітоперифітону формували *Naviculaceae* (25 видів, 18%), *Cymbellaceae* (22 види, 16%), *Fragilariaceae* (14 видів, 10%) і *Gomphonemataceae* (11 видів, 8%).

Провідними родами були *Navicula* (22 види, 16%), *Cymbella* (9 видів, 6%), *Gomphonema* (9 видів, 6%), *Sellaphora* (8 видів, 6%), *Nitzschia* (7 видів, 5%), *Amphora* (5 видів, 4%) і *Cocconeis* (5 видів, 4%).

Вперше виявлено 14 видів і різновидів пенатних діатомових водоростей фітоперифітону, які є новими для флори України. Наводимо короткі діагнози, а також мікрофотографії деяких із них, отримані в скануючому електронному мікроскопі (Табл. I, II):

Amphora meridionalis Levkov (Табл. I, 1, 2). Стулки 20–31 мкм завд., 5,7–6,4 мкм завш., штрихів 13–14 в 10 мкм. У нашому зразку стулки відрізняються від опису (Levko, 2009) більшою шириною (4–5,5 мкм) і меншим значенням числа штрихів в 10 мкм (15–18), що обумовлено, на нашу думку, міжпопуляційною мінливістю.

Таблиця 2. Таксономічне різноманіття *Bacillariophyta* ВО ЧАЕС у період 2016–2018 рр.

Клас	Порядок	Родина	Рід	Вид	Ввт	Визначений до роду
<i>Coscinodisco- phyceae</i>	<i>Thalassiosirales</i> Glezer et Makarova	<i>Thalassiosiraceae</i> Lebour	1	3	3	–
		<i>Stephanodiscaceae</i> Glezer et Makarova	4	8	8	–
	<i>Aulacoseirales</i> Crawford	<i>Aulacoseiraceae</i> Crawford	1	3	3	–
	<i>Coscinodiscales</i> Round, Crawford	<i>Hemidiscaceae</i> Hendey	1	1	1	–
<i>Fragilario- phyceae</i>	<i>Fragilariales</i> Silva emend. Round, Crawford et Mann	<i>Fragilariaceae</i> Greville	8	14	14	–
<i>Bacillariophyceae</i>	<i>Mastogloiales</i> D.G.Mann	<i>Mastogloiaceae</i> Mereschkowsky	1	2	2	–
	<i>Cymbellales</i> D.G.Mann	<i>Anomoeoneidaceae</i> D.G.Mann	1	1	1	–
		<i>Cymbellaceae</i> Greville	6	22	22	2
		<i>Gomphonemataceae</i> Kützing	3	11	11	1
	<i>Achnanthes</i> Silva	<i>Cocconeidaceae</i> Kützing	1	5	6	1
		<i>Achnanthidiaceae</i> D.G.Mann	4	13	13	–
	<i>Naviculales</i> Bessey sensu emend. Round, Crawford et D.G.Mann	<i>Sellaphoraceae</i> Mereschkowsky	2	9	9	–
		<i>Pinnulariaceae</i> D.G.Mann	2	3	3	–
		<i>Naviculaceae</i> Kützing	2	25	25	2
		<i>Pleurosigmataceae</i> Mereschkowsky	1	2	2	–
		<i>Stauroneidaceae</i> D.G.Mann	1	2	2	–
	<i>Thalassiosiphysales</i> D.G.Mann	<i>Catenulaceae</i> Mereschkowsky	1	5	6	–
	<i>Bacillariales</i> Hendey	<i>Bacillariaceae</i> Ehrenberg	2	8	8	2
	<i>Rhopalodiales</i> D.G.Mann	<i>Rhopalodiaceae</i> (Karsten) Topachevskyi et Oksiyuk	2	3	3	–
	<i>Surirellales</i> D.G.Mann	<i>Surirellaceae</i> Kützing	1	1	1	–

Європа (Levkov, 2009).

Amphora ovalis var. *lata* Levkov (Табл. I, 3–5). Стулки 60–82 завд., 17,6–20 мкм завш., штрихів 9 в 10 мкм.

Європа (Levkov, 2009).

Cocconeis pseudolineata (Geitler) Lange-Bertalot (Табл. I, 6). Стулка 28,9 мкм завд., 17,8 мкм завш., штрихів 20 в 10 мкм.

Рідкісний вид для флори України, відомий лише з водойм Полтавськорівнинного альгофлористичного району (Krivosheia, 2020).

Європа (Krammer, Lange-Bertalot, 1991b).

**Список видів *Bacillariophyta* фітоперифітону ВО Чорнобильської АЕС
у період 2016–2018 рр.**

Таксон	Частини ВО ЧАЕС			
	ПнСЧ	ПнЗЧ	ПдСЧ	ПдЗЧ
<i>Thalassiosira duostra</i> Pienaar	+	+	–	–
<i>T. faurii</i> (Gasse) Hasle	+	–	–	–
<i>T. incerta</i> Makarova	–	–	–	+
<i>Cyclostephanos dubius</i> (Fricke) Round	+	+	–	–
<i>Cyclotella atomus</i> Hustedt	+	–	–	–
<i>C. meneghiniana</i> Kützing	+	+	+	–
<i>Discostella pseudostelligera</i> (Hustedt) Houk et Klee	+	–	–	–
<i>Stephanodiscus delicatus</i> Genkal	+	+	+	+
<i>S. hantzschii</i> Grunow	+	+	+	+
<i>S. makarovae</i> Genkal	+	–	+	–
<i>S. neoastrea</i> Håkansson et Hickel emend. Casper, Scheffler et Augsten	+	+	+	+
<i>Aulacoseira ambigua</i> (Grunow) Simonsen	–	+	–	–
<i>A. granulata</i> (Ehrenberg) Simonsen	+	–	–	–
<i>A. italica</i> (Ehrenberg) Simonsen	+	–	–	–
<i>Actinocyclus normanii</i> (Gregory ex Greville) Hustedt	+	–	+	+
<i>Diatoma vulgare</i> Bory	–	–	–	+
<i>Fragilaria bidens</i> Heiberg	–	+	–	+
<i>F. vaucheriae</i> (Kützing) Petersen	+	+	+	–
<i>Meridion circulare</i> (Greville) Agardh	+	–	–	–
<i>Pseudostaurosira brevistriata</i> (Grunow) D.M. Williams et Round	–	+	+	–
<i>Punctastriata ovalis</i> Williams et Round	+	–	+	+
<i>Staurosira binodis</i> (Ehrenberg) Lange-Bertalot	+	+	–	–
<i>S. construens</i> Ehrenberg	–	+	–	–
<i>S. subsalina</i> (Hustedt) Lange-Bertalot	–	+	–	+
<i>S. venter</i> (Ehrenberg) Grunow	–	+	+	+
<i>Staurosirella martyi</i> (Héribaud) Morales et Manoylov	–	+	–	+
<i>Ulnaria acus</i> (Kützing) Aboal	–	+	–	+
<i>U. biceps</i> (Kützing) Compère	+	–	–	–
<i>U. ulna</i> (Nitzsch) Compère	–	+	–	–
<i>Aneumastus stroesei</i> Mann et Stickle	+	+	+	+
<i>A. tusculus</i> (Ehrenberg) Mann et Stickle	+	+	–	–
<i>Anomoeoneis sphaerophora</i> f. <i>sculpta</i> (Ehrenberg) Krammer	+	+	–	–
<i>Cymbella cymbiformis</i> Agardh	+	+	–	+
<i>C. cf. excisa</i> Kützing	–	+	+	–
<i>C. helvetica</i> Kützing	–	–	–	+
<i>C. lanceolata</i> (Agardh) Agardh	–	+	+	–

Таксон	Частина ВО ЧАЕС			
	ПнСЧ	ПнЗЧ	ПдСЧ	ПдЗЧ
<i>Cymbella lange-bertalotii</i> Krammer	–	–	+	–
<i>C. proxima</i> Reimer	–	+	–	–
<i>C. subcistula</i> Krammer	+	+	+	+
<i>C. tumida</i> (Brébisson) Van Heurck	–	–	–	+
<i>Cymbella</i> sp. 1	–	–	+	–
<i>Encyonema caespitosum</i> var. <i>maxima</i> Krammer	+	+	+	+
<i>E. elginense</i> (Krammer) D.G.Mann	–	+	–	+
<i>E. prostratum</i> (Berkeley) Kützing	+	–	+	+
<i>Encyonopsis minuta</i> Krammer et Reichardt	–	+	–	–
<i>Encyonopsis</i> sp.	+	+	–	–
<i>Geissleria decussis</i> (Oestrup) Lange-Bertalot et Metzeltin	+	+	–	–
<i>Paraplaconeis placentula</i> (Ehrenberg) Kulikovskiy	+	–	–	–
<i>P. prespanensis</i> (Levkov, Krstic et Navkov) Kulikovskiy et Lange-Bertalot	+	–	–	+
<i>Placoneis constans</i> (Hustedt) Cox	+	–	–	–
<i>P. gastrum</i> (Ehrenberg) Mereschowsky	–	+	–	–
* <i>P. opportuna</i> (Hustedt) Chudaev et Gololobova	–	–	–	+
<i>P. pseudanglica</i> (Lange-Bertalot) Cox	+	+	+	+
<i>P. signata</i> (Hustedt) A.Mayama	+	–	–	–
<i>Gomphoneis olivaceum</i> (Hornemann) Brébisson	+	+	–	–
<i>Gomphonema acuminatum</i> Ehrenberg	–	+	–	–
<i>G. brebissonii</i> Kützing	–	+	–	–
* <i>G. curtum</i> Hustedt	+	–	–	+
<i>G. italicum</i> Kützing	+	+	–	+
* <i>G. lateripunctatum</i> E.Reichardt & Lange-Bertalot	+	–	–	–
<i>Gomphonema pala</i> Reichardt	+	+	–	–
<i>G. parvulum</i> (Kützing) Kützing	+	–	–	–
<i>G. subclavatum</i> (Grunow) Grunow	–	+	–	–
<i>Gomphonema</i> sp.	+	–	–	–
<i>Reimeria uniseriata</i> S.E.Sala, J.M.Guerreto et Ferrarii	–	+	–	–
<i>Cocconeis neodiminuta</i> Krammer	–	–	–	+
<i>C. neothumensis</i> Krammer	+	–	–	–
<i>C. pediculus</i> Ehrenberg	+	+	+	+
<i>C. placentula</i> var. <i>euglypta</i> Ehrenberg	+	+	+	+
<i>Cocconeis pseudolineata</i> (Geitler) Lange-Bertalot	–	–	+	–
<i>Cocconeis</i> sp.	–	+	+	–
<i>Achnanthidium eutrophilum</i> (Lange-Bertalot) Lange-Bertalot	+	+	+	+
<i>A. exile</i> (Kützing) Heiberg	–	+	–	–
<i>A. gracillum</i> (F.Meister) Lange-Bertalot	–	+	–	–
<i>A. jackii</i> Rabenhorst	–	+	–	–
<i>Karayevia clevei</i> Round et Bukhtiyarova	+	–	+	+

Таксон	Частини ВО ЧАЕС			
	ПнСЧ	ПнЗЧ	ПдСЧ	ПдЗЧ
<i>Karayevia laterostrata</i> (Hustedt) Round et Bukhtiyarova	–	–	–	+
* <i>K. nitidiformis</i> (Lange-Bertalot) Bukhtiyarova	–	–	+	+
<i>Planothidium delicatulum</i> (Kützing) Round et Bukhtiyarova	–	+	–	–
<i>P. granum</i> (Hohn et Hellermann) Lange-Bertalot	+	–	–	–
* <i>P. linkei</i> (Hustedt) Lange-Bertalot	–	+	–	–
<i>P. rostratum</i> (Oestrup) Lange-Bertalot	–	+	–	–
* <i>Psammothidium grischumum</i> (Withrich) Bukhtiyarova et Round	+	+	–	–
* <i>P. marginulatum</i> (Grunow) Bukhtiyarova et Round	+	–	+	–
<i>Fallacia pygmaea</i> (Kützing) Stickle et D.G.Mann	+	+	–	–
<i>Sellaphora bacillum</i> (Ehrenberg) D.G.Mann	+	+	–	–
<i>S. cf. lange-bertalotii</i> Metzeltin	+	–	–	–
<i>S. mutatoides</i> Lange-Bertalot et Metzeltin	–	–	–	+
* <i>S. nigri</i> (DeNovaris) C.F.Wetzel et Ector	+	–	–	–
<i>S. obesa</i> D.G.Mann et Bayer	–	–	–	+
<i>S. parapupula</i> Lange-Bertalot	+	–	–	–
* <i>S. saprotolerans</i> Lange-Bertalot, G.Hofmann et Cantonati	+	–	–	–
* <i>S. schauburgii</i> (Lange-Bertalot et G.Hofmann) C.E.Wetzel et Ector	–	–	+	–
<i>Caloneis latiuscula</i> (Kützing) Cleve	+	–	–	–
<i>C. permagna</i> (Bailey) Cleve	+	–	–	–
<i>Pinnularia schoenfelderi</i> Krammer	–	+	–	–
<i>Hippodonta capitata</i> (Ehrenberg) Lange-Bertalot, Metzeltin et Witkowski	+	–	–	+
<i>H. hungarica</i> (Grunow) Lange-Bertalot, Metzeltin et Witkowski	+	–	–	–
* <i>H. olofarmanii</i> Vande Vijver et Jarlmann	+	–	–	–
<i>Navicula amphiceropsis</i> Lange-Bertalot et Rumrich	+	–	–	–
<i>N. antonii</i> Lange-Bertalot	+	+	+	–
<i>N. broetzii</i> Lange-Bertalot et Reichardt	+	–	–	–
<i>N. capitatoradiata</i> Germain	+	+	+	+
<i>N. cari</i> Ehrenberg	–	–	+	–
<i>N. cryptotenella</i> Lange-Bertalot	+	+	+	–
<i>N. libonensis</i> Schoeman	+	–	–	–
<i>N. oppugnata</i> Hustedt	+	–	–	–
<i>N. pseudolanceolata</i> Lange-Bertalot	+	–	–	–
<i>N. radiosa</i> Kützing	+	–	–	+
<i>N. reinhardtii</i> (Grunow) Grunow	+	–	–	+
<i>N. salinarum</i> Grunow	+	–	–	–
* <i>N. subalpina</i> E.Reichardt	+	–	–	–
<i>N. cf. subrhynchocephala</i> Hustedt	+	–	–	–
<i>N. tripunctata</i> (O.F.Müller) Bory	+	+	+	+

Таксон	Частини ВО ЧАЕС			
	ПнСЧ	ПнЗЧ	ПдСЧ	ПдЗЧ
<i>Navicula cf. trivialis</i> Lange-Bertalot	+	–	–	–
<i>N. veneta</i> Kützing	+	–	–	+
<i>N. viridula</i> (Kützing) Ehrenberg	+	–	–	–
<i>N. viridulacalis</i> Lange-Bertalot	–	+	–	–
<i>N. upsaliensis</i> (Grunow) Peragallo	+	–	–	–
<i>Navicula</i> sp. 1	+	–	–	–
<i>Navicula</i> sp. 2	+	–	–	–
<i>Gyrosigma spenceri</i> (Quekett) Griffith et Henfrey	+	–	–	–
<i>G. strigilis</i> (W.Smith) Cleve	–	–	–	+
<i>Craticula cuspidata</i> (Kützing) D.G.Mann	+	–	–	–
<i>Craticula ambigua</i> (Ehrenberg) D.G.Mann	+	–	–	–
<i>Amphora indistincta</i> Levkov	+	–	+	–
* <i>A. meridionalis</i> Levkov	–	–	–	+
<i>A. ovalis</i> (Kützing) Kützing var. <i>ovalis</i>	+	+	–	–
* <i>A. ovalis</i> var. <i>lata</i> Levkov	–	–	+	+
<i>A. pediculus</i> (Kützing) Grunow	+	–	–	–
<i>A. cf. vetula</i> Levkov	–	–	+	–
<i>Nitzschia acula</i> Hantzsch	–	–	–	+
<i>N. dissipata</i> var. <i>media</i> (Hantzsch) Grunow	+	+	+	+
<i>N. gracilis</i> Hantzsch	–	–	–	+
<i>N. palea</i> (Kützing) W.Smith	–	–	+	–
<i>N. recta</i> Hantzsch	–	–	+	+
<i>Nitzschia</i> sp. 1	–	+	–	–
<i>Nitzschia</i> sp. 2	–	–	–	+
<i>Tryblionella hungarica</i> (Grunow) Frenguelli	+	–	–	–
<i>Epithemia adnata</i> (Kützing) Brébisson	+	+	–	+
<i>E. sorex</i> Kützing	+	+	+	–
<i>Rhopalodia gibba</i> (Ehrenberg) O.Müller	–	+	–	–
<i>Cymatopleura solea</i> (Brébisson) W.Smith	+	+	+	+

Позначення. ПнСЧ – північно-східна частина, ПнЗЧ – північно-західна, ПдСЧ – південно-східна частина, ПдЗЧ – південно-західна; * – новий вид для флори України.

Gomphonema curtum Hustedt (Табл. I, 7). Стулки 12,7–23,6 мкм завд., 5–7 мкм завш., штрихів 10–14 в 10 мкм.

Європа (Levkov et al., 2016).

Gomphonema lateripunctatum E.Reichardt & Lange-Bertalot (Табл. I, 8). Стулка 44,3 мкм завд., 8,5 мкм завш., штрихів 8 в 10 мкм.

Європа (Hofmann et al., 2017).

Hippodonta oloffarmanii Van de Vijver et Jarlmann (Табл. I, 9). Стулка 24,3 мкм завд., 5,7 мкм завш., штрихів 8 в 10 мкм.

Європа (Van de Vijver et al., 2012).

Karayevia nitidiformis (Lange-Bertalot) Bukhtiyarova (Табл. I, 10–12).
Стулки 17,2–28 мкм завд., 5,4–7,5 мкм завш., штрихів 11–12 в 10 мкм.
Європа (Krammer, Lange-Bertalot, 1991b).

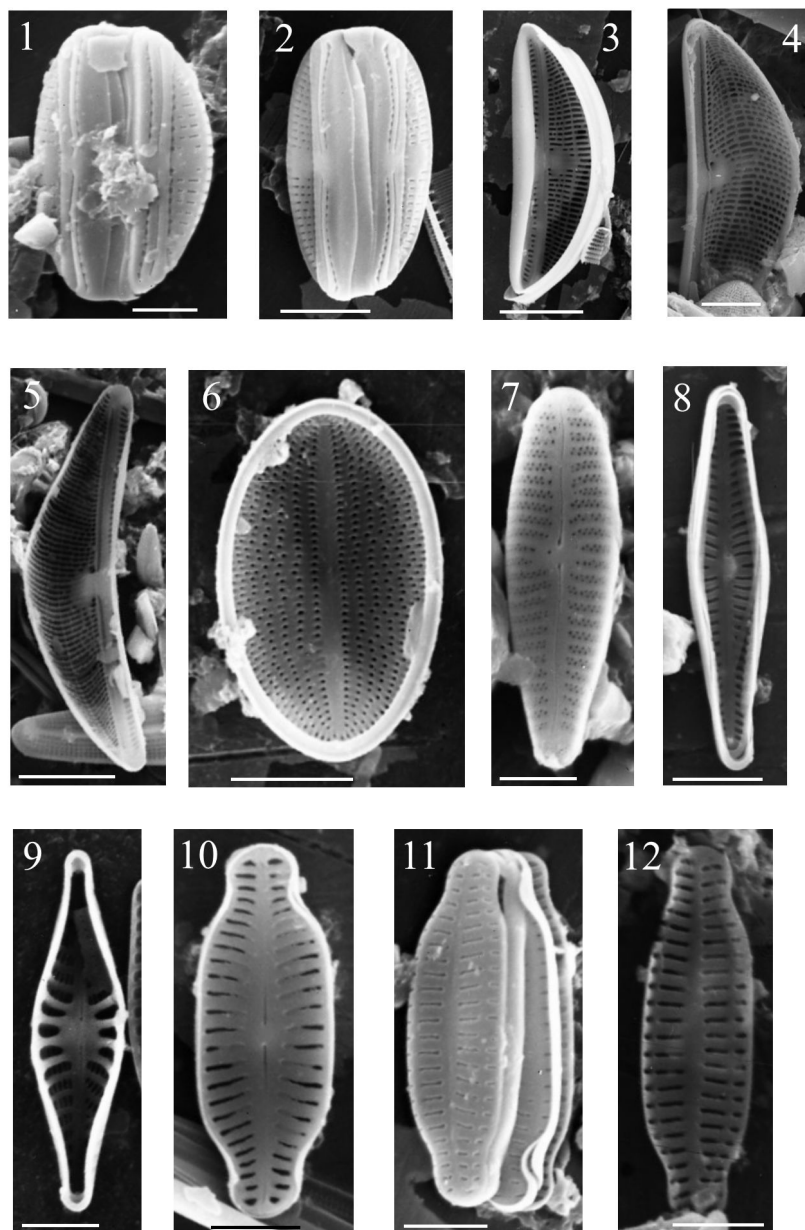


Табл. I. Електронні мікрофотографії стулок (СЕМ): 1, 2 – *Amphora* cf. *meridionalis*; 3–5 – *A. ovalis* var. *lata*; 6 – *Cocconeis pseudolineata*; 7 – *Gomphonema curtum*; 8 – *G. lateripunctatum*; 9 – *Hippodonta olojarlmanii*; 10–12 – *Karayevia nitidiformis*. 1, 2, 4, 7, 11, 12 – зовнішня поверхня стулок, 3, 5, 6, 8–10 – внутрішня. Масштаб: 1, 2, 7, 9–12 – 5 мкм; 3, 5 – 20 мкм; 4, 6, 8 – 10 мкм

Navicula subalpina E.Reichardt (Табл. II, 1). Стулка 34,4 мкм завд., 6,7 мкм завш., штрихів 10 в 10 мкм, ареол 30 в 10 мкм. У нашому матеріалі стулка відрізняється від опису (Lange-Bertalot, 2001) дещо меншим значенням числа штрихів в 10 мкм (14–17), що обумовлено, на нашу думку, міжпопуляційною мінливістю.

Європа, ймовірно космополіт (Lange-Bertalot, 2001).

Placoneis opportuna (Hustedt) Chudaev et Gololobova (Табл. II, 2). Стулка 13,2 мкм завд., 6,4 мкм завш., штрихів 20 в 10 мкм.

Європа (Krammer, Lange-Bertalot, 1986).

Planothidium linkei (Hustedt) Lange-Bertalot (Табл. II, 3). Стулка 38,9 мкм завд., 14,4 мкм завш., штрихів 11 в 10 мкм.

Європа (Krammer, Lange-Bertalot, 1991b).

Psammothidium grischunum (Withrich) Bukhtiyarova et Round (Табл. II, 4, 5). Стулки 11,8–13,2 мкм завд., 4–5,4 мкм завш., штрихів 21–24 в 10 мкм.

Європа (Krammer, Lange-Bertalot, 1991b).

Psammothidium marginulatum (Grunow) Bukhtiyarova et Round (Табл. II, 6, 7). Стулки 8,9–10 мкм завд., 4–4,1 мкм завш., штрихів 22 в 10 мкм.

Європа (Krammer, Lange-Bertalot, 1991b).

Sellaphora nigri (De Novaris) C.F.Wetzel et Ector (Табл. II, 8). Стулка 10 мкм завд., 4,4 мкм завш., штрихів 21 в 10 мкм.

Європа (Wetzel et al., 2015).

Sellaphora saprotolerans Lange-Bertalot, G.Hofmann et Cantonati (Табл. II, 9–11). Стулки 24,2–30 мкм завд., 8,9–10 мкм завш., штрихів 16 в 10 мкм.

Європа (Hofmann et al., 2017).

Sellaphora schauburgii (Lange-Bertalot et G.Hofmann) C.E.Wetzel et Ector (Табл. II, 12). Стулка 8,5 мкм завд., 4,5 мкм завш., штрихів 24 в 10 мкм.

Європа (Hofmann et al., 2017).

Для оцінки просторового розподілу діатомей, як відповідної реакції на спрацювання рівня води, доцільно було порівняти таксономічну структуру фітоперифітону *Bacillariophyta* в різних частинах водойми-охолоджувача. Для цього були розраховані коефіцієнти рангової кореляції Кендела (табл. 3).

Отже, найвищі коефіцієнти рангової кореляції τ зареєстровані між південно-східною і південно-західною частинами ВО ЧАЕС: 0,78 для провідних родин і 0,68 для провідних родів, найнижчі – між північною і південною частинами водойми: 0,62–0,63 для провідних родин і 0,40–0,45 для провідних родів. Так, на рівні родин в північно-східній частині перше рангове місце за кількістю видів посідали *Naviculaceae*, в інших частинах водойми – *Cymbellaceae*. Друге і третє рангові місця займали: в північно-східній частині – *Cymbellaceae* та *Stephanodiscaceae*, в північно-західній – *Fragilariaceae* та *Achnanthes*, в південно-східній – *Naviculaceae* та *Stephanodiscaceae*, в південно-західній – *Fragilariaceae* та *Naviculaceae*.

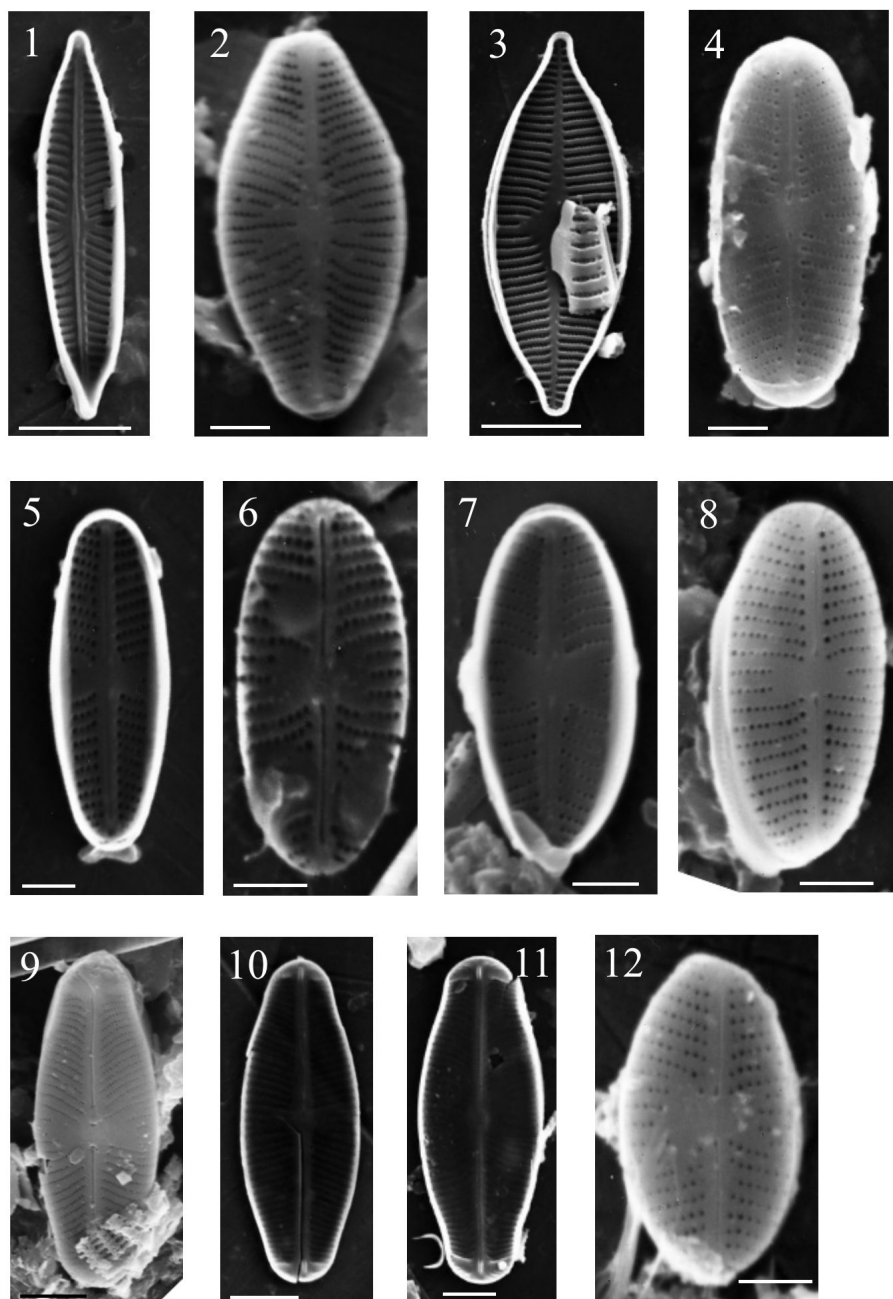


Табл. II. Електронні мікрофотографії стулок (СЕМ): 1 – *Navicula* cf. *subalpina*; 2 – *Placoneis opportuna*; 3 – *Planothidium linkei*; 4, 5 – *Psammothidium grischunum*; 6, 7 – *P. marginulatum*; 8 – *Sellaphora nigri*; 9–11 – *S. saprotolerans*; 12 – *S. schauburgii*. 1, 2, 5–7, 10, 11 – зовнішня поверхня стулок; 2, 4, 5, 8, 9, 12 – внутрішня. Масштаб: 1, 3 – 10 мкм; 2, 4–8, 12 – 2 мкм; 9–11 – 5 мкм

Таблиця 3. Коефіцієнти рангової кореляції Кендела (τ) для провідних родин і родів *Bacillariophyta* фітоперифітону ВО ЧАЕС

τ (родини) \ τ (роди)	ПнСЧ	ПнЗЧ	ПдСЧ	ПдЗЧ
ПнСЧ	1	0,68	0,62	0,68
ПнЗЧ	0,33	1	0,63	0,70
ПдСЧ	0,41	0,45	1	0,78
ПдЗЧ	0,45	0,40	0,68	1

На рівні родів перше рангове місце у всіх частинах водойми належало *Navicula*, друге і третє в північно-східній частині посідали *Gomphonema* та *Sellaphora*, в північно-західній частині – *Gomphonema* та *Cymbella*, в південно-східній – *Cymbella* та *Stephanodiscus*, в південно-західній – *Nitzschia* та *Cymbella*.

Поява гетерогенних угруповань водоростей в межах водойми підтверджується порівняльним аналізом фітоперифітону в його різних частинах за коефіцієнтом Серенсена (рис. 2).

З дендрограми видно, що видовий склад *Bacillariophyta* істотно відрізняється в різних частинах водойми. Це ще раз підтверджує, що зменшення площі акваторії призвело до локалізації угруповань, про що свідчать низькі коефіцієнти Серенсена. Вважаємо, що великомасштабне спрацювання рівня води зумовило формування всередині водойми специфічних локальних діатомових угруповань.

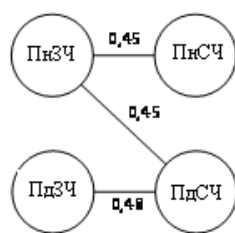


Рис. 2. Дендрограма подібності видового складу фітоперифітону *Bacillariophyta* в різних частинах ВО ЧАЕС: ПнЗЧ – північно-західна частина, ПнСЧ – північно-східна, ПдЗЧ – південно-західна, ПдСЧ – південно-східна частина

Висновки

На основі ретроспективних літературних даних і сучасних оригінальних досліджень виділено кілька періодів функціонування діатомового фітоперифітону водойми-охолоджувача: доаварійний, післяаварійний і

сучасний. Найбільша різноманітність домінуючого комплексу діатомей спостерігалася в післяаварійний період. Внаслідок часткового відключення блоків АЕС в цей час знизилися максимальні температури і з'явилися нові біотопи, що позитивно вплинуло на вегетацію діатомових водоростей. Повне виведення АЕС з експлуатації та крупномасштабне спрацювання рівня ВО призвели до формування гомотермії і зменшення площі водного дзеркала. Відповідно, знизилася кількість біотопів і їх різноманітність, що зумовило зменшення кількості домінуючих видів у сучасний період.

Важливим антропогенним чинником у ВО ЧАЕС є радіонуклідне забруднення води. Але порівняльний аналіз не показав зменшення таксономічного різноманіття *Bacillariophyta* в період максимального радіонуклідного забруднення, а зниження і стабілізація радіонуклідного забруднення на більш низькому рівні не вплинули на кількість діатомей. Отже, можна припустити, що діатомеї не є чутливими біологічними системами до підвищеного радіонуклідного забруднення води.

Дослідження сучасного таксономічного різноманіття фітоперифітону *Bacillariophyta* ВО ЧАЕС з одночасним застосуванням методів світлової та електронної мікроскопії показало, що воно представлено 141 видом (143 ввт, враховуючи ті, що містять номенклатурний тип виду) з 45 родів, 20 родин, 12 порядків та 3 класів. При цьому 14 видів і різновидів *Bacillariophyta* є новими для флори України.

У даній роботі вперше приведені їхні діагнози з ілюстраціями. Встановлено, що просторовий розподіл фітоперифітону *Bacillariophyta* по акваторії ВО ЧАЕС характеризується значною гетерогенністю, про що свідчать низькі коефіцієнти рангової кореляції Кендела і видової подібності Серенсена. Тривале підвищене забруднення ВО ЧАЕС техногенними радіонуклідами ^{90}Sr і ^{137}Cs та великомасштабне спрацювання рівня води ВО на кілька метрів не викликали істотної деградації діатомового фітоперифітону, який і в нових екологічних умовах характеризується високим таксономічним багатством, формує просторову гетерогенність альгоугруповань і залишається основою автотрофної ланки, що формує потоки енергії і круговорот речовин, забезпечуючи життєздатність гідробіонтів вищих трофічних рівнів.

Автори всловлюють щире подяку зав. відділу водної радіоекології Інституту гідробіології НАН України д. б. н., проф. Гудкову Д.І. і ст. науковому співробітнику, к. б. н. Кагляну А.Є. за допомогу у відборі проб фітоперифітону на ВО ЧАЕС. Робота виконана в рамках наукових досліджень «Гідробіологічні спостереження при знятті з експлуатації

озера-охолоджувача Чорнобильської АЕС» (2016–2018 рр.) – № 0116U000868 і державного завдання № 121051100099-5.

Список літератури

- Bugai D., Dubas V., Dyachenko T., Shcherbak V. 2019. *Environmental impact assessment of the drawdown of the Chernobyl NPP cooling pond as a basis for its decommissioning and remediation*. Vienna: Int. Atom. Energy Agency. 172 p.
- Genkal S.I. 1993. *Intraspecific variability of freshwater diatoms of the Centrophyceae class*: Dr. Sci. (Biol.) Abstract. St. Petersburg. [Генкал С.И. 1993. *Внутривидовая изменчивость пресноводных диатомовых водорослей класса Centrophyceae*: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. СПб. 41 с.].
- Genkal S.I., Yarushina M.I. 2018. *Diatoms of poorly studied aquatic ecosystems of the Far North of Western Siberia*. Moscow: Sci. World. 212 p. [Диатомовые водоросли слабоизученных водных экосистем Крайнего Севера Западной Сибири. М.: Науч. мир. 212 с.].
- Genkal S.I., Chekryzheva T.A., Komulaynen S.F. 2015. *Diatom algae in waterbodies and watercourses of Karelia*. Moscow: Nauch. Mir. 202 p. [Генкал С.И., Чекрыжева Т.А., Комулайнен С.Ф. 2015. *Диатомовые водоросли водоемов и водотоков Карелии*. М.: Науч. мир. 202 с.].
- Gudkov D.I., Shcherbak V.I., Protasov A.A., Silayeva A.A., Pashkova O.V., Semenyuk N.Ye., Kaglyan A.Ye., Linchuk M.I., Zadorozhnaya A.M., Belyayev V.V., Yurchuk L.P., Stepanova T.I. 2018. Dynamic of water quality and radionuclide contamination parameters in the components of the Chornobyl NPP Cooling Pond ecosystem. *Issues Chornobyl Exclusion Zone*. 18: 67–74. [Гудков Д.И., Щербак В.И., Протасов А.А., Силаева А.А., Пашкова О.В., Семенюк Н.Е., Каглян А.Е., Линчук М.И., Задорожная А.М., Беляев В.В., Юрчук Л.П., Степанова Т.И. 2018. Динамика показателей качества водной среды и радионуклидного загрязнения компонентов экосистемы водоема-охладителя Чернобыльской АЭС. *Проблеми Чорнобильської зони відчуження*. 18: 67–74].
- Hofmann G., Werum M., Lange-Bertalot H. 2017. *Diatomeen im Süßwasser-Benthos von Mitteleuropa*. Ruggell: A.R.G. Gantner Verlag. K.-G. 908 p.
- Kaglyan A.Ye., Gudkov D.I., Kireyev S.I., Yurchuk L.P., Gupalo Ye.A. 2019. Fish of the Chornobyl exclusion zone: modern levels of radionuclide contamination and radiation doses. *Hydrobiol. J.* 55(5): 81–99.
- Kalenichenko R.A. 1991. In: *Hydrobiology of cooling ponds of thermal and nuclear power plants of Ukraine*. Kyiv^ Nauk. Dumka. 351 p. [Калениченко Р.А. 1991. Фитоперифитон. В кн.: *Гидробиология водоемов-охладителей тепловых и атомных электростанций Украины*. Киев: Наук. думка. 351 с.
- Krammer K. 1997a. In: *Bibliotheca. Diatomologica*. Bd. 36. Berlin, Stuttgart: J. Cramer. 382 p.
- Krammer K. 1997b. In: *Bibliotheca. Diatomologica*. Bd. 37. Berlin, Stuttgart: J. Cramer. 469 p.
- Krammer K. 2000. In: *Diatoms of Europe*. Vol. 1. Ruggell: A.R.G. Gantner Verlag. K.-G. 703 p.
- Krammer K. 2002. In: *Diatoms of Europe*. Vol. 3. Ruggell: A.R.G. Gantner Verlag. K.-G. 584 p.

- Krammer K. 2003. In: *Diatoms of Europe*. Vol. 4. Ruggell: A.R.G. Gantner Verlag. K.-G. 530 p.
- Krammer K., Lange-Bertalot H. 1986. In: *Süßwasserflora von Mitteleuropa*. Stuttgart, New York: Gustav Fischer Verlag. 876 p.
- Krammer K., Lange-Bertalot H. 1988. In: *Süßwasserflora von Mitteleuropa*. Stuttgart, Jena: Gustav Fischer Verlag. 536 p.
- Krammer K., Lange-Bertalot H. 1991a. In: *Süßwasserflora von Mitteleuropa*. Stuttgart, Jena: Gustav Fischer Verlag. 576 p.
- Krammer K., Lange-Bertalot H. 1991b. In: *Süßwasserflora von Mitteleuropa*. Stuttgart, Jena: Fischer Verlag. 437 p.
- Krivosheia J.N. 2019. Diatoms of the Poltava-Plain algofloristic district water bodies (Ukraine). *Int. J. Algae*. 22(2): 137–158. <https://doi.org/10.1615/InterJAlgae.v22.i2.40>
- Kulikovskiy M.S., Glushchenko A.M., Genkal S.I., Kuznetsova I.V. 2016. *Identification book of diatoms from Russia*. Yaroslavl: Filigran. 804 p. [Куликовский М.С., Глущенко А.М., Генкал С.И., Кузнецова И.В. 2016. *Определитель диатомовых водорослей России*. Ярославль: Филигрань. 804 с.].
- Lange-Bertalot H. 2001. In: *Diatoms of Europe*. Vol. 2. Ruggell: A.R.G. Gantner Verlag. K.-G. 526 p.
- Lange-Bertalot H., Genkal S.I. 1999. In: *Iconographia Diatomologia*. Vol. 6. Vaduz: A.R.G. Gantner Verlag. K.-G. 272 p.
- Lange-Bertalot H., Bak M., Witkowski A. 2011. In: *Diatoms of Europe*. Vol. 6. Ruggell: A.R.G. Gantner Verlag. K.-G. 747 p.
- Lange-Bertalot H., Hofmann G., Werum M., Cantonati M. 2017. *Freshwater benthic diatoms of Central Europe*. Schmitten-Oberreifenberg: Koeltz Bot. Books. 942 p.
- Levkov Z. 2009. In: *Diatoms of Europe*. Vol. 5. Ruggell: A.R.G. Gantner Verlag. K.-G. 916 p.
- Levkov Z. 2016. In: *Diatoms of Europe*. Vol. 8. Ruggell: A.R.G. Gantner Verlag. K.-G. 552 p.
- Levkov Z., Metzeltin D., Pavlov A. 2013. In: *Diatoms of Europe*. Vol. 7. Ruggell: A.R.G. Gantner Verlag. K.-G. 697 p.
- Moser G. 1994. In: *Biblioteca Diatomologica*. Bd 29. Berlin, Stuttgart: J. Cramer. 212 p.
- Reichardt E. 1999. In: *Iconograph. Diatom.* 8: 1–203.
- Semenyuk N.Ye., Shcherbak V.I. 2016. Structural and functional organization of phytoepiphyton of the Dnieper Reservoirs and factors influencing its development. Rep. 1. Role of some hydrophysical factors. *Hydrobiol. J.* 52(5): 3–17.
- Shcherbak V.I. 1999. Structural and functional characteristics of phytoplankton in the water bodies within the Exclusion Zone of the Chernobyl Nuclear Power Station. *Hydrobiol. J.* 35(5): 158–174.
- Shcherbak V.I., Semenyuk N.Ye., Zadorozhnaya A.M. 2018. Variety of phytoplankton and phytoperiphyton of the Chernobyl cooling reservoir at the stage of water levels activation. *Issues Chornobyl Exclusion Zone*. 18: 75–80. [Щербак В.І., Семенюк Н.Є., Задорожна Г.М. 2018. Різноманіття фітопланктону та фітоперифітону водоймища-охолоджувача ЧАЕС на стадії спрацювання рівнів води. *Проблеми Чорнобильської зони відчуження*. 18: 75–80].

- Shcherbak V.I., Genkal S.I., Semenyuk N.Ye. 2019. New for Ukraine representatives of *Bacillariophyta* from phytoepiphyton of the Dnieper River Reservoirs (Ukraine). *Int. J. Algae*. 21(3): 271–284. <https://doi.org/10.1615/InterJAlgae.v21.i3.60>
- Shevchenko T.F. 2004. Long-term dynamics of phytoperiphyton distribution in the cooling pond of the Chernobyl NPP. *Hydrobiol. J.* 40(3): 30–47. [Шевченко Т.Ф. 2004. Многолетняя динамика распределения фитоперифитона в водоеме-охладителе Чернобыльской АЭС. *Гидробиол. журн.* 40(3): 30–47].
- Shevchenko T.F., Klenus V.G. 1997. Phytoperiphyton of the reservoir-cooler of the Chernobyl nuclear power plant in the post-accident period. *Hydrobiol. J.* 33(5): 16–26. [Шевченко Т.Ф., Кленус В.Г. 1997. Фитоперифитон водоема-охладителя Чернобыльской АЭС в послеварийный период. *Гидробиол. журн.* 33(5): 16–26].
- Van de Vijver B., Jarlman A., de Haan M., Ector L. 2012. New and interesting diatom species (*Bacillariophyceae*) from Swedish rivers. *Nova Hedw.* 141: 237–254.
- Wetzel C.E., Ector L., Van de Vijver B., Compère P., Mann D.G. 2015. Morphology, typicication and critical analysis of some ecologically important small naviculoid species (*Bacillariophyta*). *Fottea, Olomouc*. 15(2): 203–234.

Підписав до друку П.М. Царенко

Shcherbak V.I.¹, Genkal S.I.², Semenyuk N.Ye.¹ 2021. **Dynamics of periphytic *Bacillariophyta* at different stages of operation of the Chornobyl Nuclear Power Plant cooling pond (Ukraine).** *Algologia*. 31(4): 299–319

¹ Institute of Hydrobiology of the NAS of Ukraine,
12 Prosp. Heroyiv Stalingrada, Kyiv 04210, Ukraine

² I.D. Papanin Institute for Biology of Inland Waters of RAS,
Settle Borok, Nekouz District, Yaroslavl Region 152742, Russia

The paper deals with the long-term dynamics of taxonomic composition of diatom periphyton in the Chornobyl nuclear power plant cooling pond (ChNPP cooling pond) at different stages of its operation: before the accident, after the accident and during the present period. The dominant complex of diatoms was marked by the highest diversity in the period after the accident, due to water temperature decreasing and new habitats appearing. The large-scale water-level drawdown in the present period caused the water table to reduce, and the habitats became less diverse. Owing to this, the number of dominant species decreased. Studying the present-day taxonomic composition of periphytic algae in the ChNPP cooling pond by way of light microscopy and scanning electron microscopy made it possible to identify 141 diatom species, represented by 143 infraspecific taxa, from 45 genera, 20 families, 12 orders and 3 classes. 14 species and infraspecific taxa of diatoms from genera *Amphora*, *Cocconeis*, *Gomphonema*, *Hippodonta*, *Karayevia*, *Navicula*, *Placoneis*, *Planothidium*, *Psammothidium*, *Sellaphora* are new for Ukrainian

flora. High contamination of the ChNPP cooling pond with man-made radionuclides ^{90}Sr , ^{137}Cs and the large-scale water-level drawdown did not cause a significant degradation of diatom periphyton, which, in new ecological conditions, is distinguished by high taxonomic diversity and spatial heterogeneity.

Key words: *Bacillariophyta*, phytoperiphyton, Chornobyl Nuclear Power Plant cooling pond, Ukraine, scanning electron microscopy

Вплив культуральної рідини *Interfillum terricola* (J.B.Petersen) Mikhailiuk et al. (*Charophyta*) на алелопатичні, мікробіологічні, агрофізичні та агрохімічні властивості ґрунту

Царенко П.М.¹, Заїменко Н.В.², Дідик Н.П.^{2*}, Елланська Н.Е.²,
Павлюченко Н.А.², Іваницька Б.О.², Юношева О.П.², Демченко Е.М.¹

¹ Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України,
вул. Терещенківська, 2, Київ 01601, Україна
ptsar@ukr.net

² Національний ботанічний сад імені М.М. Гришка НАН України,
вул. Тимірязєвська, 1, Київ 01014, Україна
*nataliya_didyk@ukr.net

Надійшла до редакції 05.08.2021. Після доопрацювання 16.08.2021. Підписана до друку 16.08.2021.
Опублікована 22.12.2021

Реферат. Досліджено вплив культуральної рідини харафітової водорості *Interfillum terricola* на алелопатичні, мікробіологічні, агрофізичні та агрохімічні властивості ґрунту в модельних вегетаційних дослідах. Алелопатичний режим ґрунту оцінювали методами біологічних проб для водорозчинних сполук і прямого біотестування, а також за показниками життєвого стану рослин-фітометрів пшениці озимої (*Triticum aestivum* L., сорт «Смуглянка») і кукурудзи кормової (*Zea mays* L., сорт «Кадр 267 МВ»), насіння яких висівали одразу після внесення культуральної рідини. Кількість пророслого насіння реєстрували з 3-ї по 8-му добу після посіву. Життєвий стан рослин-фітометрів оцінювали наприкінці експериментів за морфометричними показниками росту (площа поверхні листків, біомаса сухої речовини надземних частин і коренів) та вмісту фотосинтетичних пігментів у листках. По закінченні досліду відбирали зразки ґрунту для визначення цитостатичної дії водорозчинних сполук, мікробіологічного й біохімічного аналізів. Фенольні сполуки виділяли з ґрунту методом іонного обміну (десорбції) за допомогою іонообмінника КУ-2-8 (H⁺). Паралельно визначали електропровідність, окисно-відновний потенціал, рН та вміст біогенних елементів у ґрунті. Встановлено стимулюючий ефект культуральної рідини на проростання насіння, ріст та розвиток асиміляційних органів рослин пшениці та кукурудзи. Розмір ефекту не залежав від концентрації, що характерно

© Царенко П.М., Заїменко Н.В., Дідик Н.П., Елланська Н.Е., Павлюченко Н.А.,
Іваницька Б.О., Юношева О.П., Демченко Е.М., 2021

для сигнальних алелопатично активних речовин. Алелопатична та цитостатична активність ґрунту знижувалася з використанням культуральної рідини *I. terricola*. Внесення культуральної рідини суттєво впливало на чисельність мікроорганізмів різних екологічних груп. Найменша чисельність мікроорганізмів спостерігалася за мінімальної норми внесення мікродорості, а її збільшення сприяло зростанню чисельності майже всіх досліджених груп мікроорганізмів, показників трансформації та мінералізації органічної речовини. Під впливом культуральної рідини вміст фенольних сполук у ґрунті знижувався у 1,1–1,6 рази, особливо за норми 10 мл. Оброблений культуральною рідиною ґрунт мав вищі показники трансформації та мінералізації органічної речовини, ніж необроблений. Концентрація фенольних сполук у ґрунті знижувалася, очевидно, за рахунок активізації мікробіоти й посилення внаслідок цього процесів деструкції. Зафіксовано підвищення електропровідності ґрунту при внесенні інокуляту мікродоростей, що може свідчити про виділення в субстрат йонів металів. Підтвердженням тому є збільшення вмісту Ca і Mg.

Ключові слова: *Interfilum terricola*, алелопатичні взаємодії, пшениця, кукурудза, фенольні речовини, мікробіоценоз, біогенні елементи

Вступ

Стрімке зростання чисельності населення, зменшення харчових ресурсів, виснаження сільськогосподарських земель, катастрофічне забруднення водних та наземних екосистем синтетичними агрохімікатами спонукало вчених до створення та впровадження нових ефективних, екологічно обґрунтованих та ресурсоощадних біотехнологій у сільськогосподарському виробництві.

Перспективним напрямом досліджень є створення стійких агрономічно корисних консорцій сільськогосподарських рослин з мікроорганізмами. Мікродорості – одна з найдавніших груп організмів, які є обов'язковими учасниками функціонування ґрунтових ценозів (Hollerbach, Shtina, 1969; Kostikov, 1991; Ettl, Gärtner, 2014). Трофічні відносини пов'язують водорості з ґрунтовими безхребетними, бактеріями та актиноміцетами, які можуть брати участь у процесах гумусоутворення. Внесення культур водоростей у ґрунт призводить до суттєвого збільшення чисельності й різноманіття останніх, рідше спостерігається їхня токсична дія (Maltseva, 2007).

Упродовж мільйонів років вищі рослини та мікродорості еволюціонували поряд, формуючи стійкі асоціації, допомагаючи одне одному виживати за несприятливих умов середовища. Стійкі асоціації між вільноживучими мікродоростями та вищими рослинами досить поширені в природі (Jaiswal et al., 2008). Дослідження останніх років довели можливість створення стійких асоціацій між деякими штамми

вільноживучих мікроводоростей і папоротепоподібних (зокрема, представників родів *Synechococcus* Nägeli, *Anabaena* Bory ex Bornet & Flahault, *Chlorogloeopsis* A.K.Mitra & D.C.Pandey, *Azolla* Lam., *Nostoc* Vaucher ex Bornet & Flahault тощо) та культурними рослинами (Sood et al., 2011).

Із судинними рослинами мікроводорості можуть бути пов'язані трофічно й/або топічно (симбіотичними, мутуалістичними та алелопатичними взаємовідносинами). Особливу роль тут відіграють такі властивості мікроводоростей, як утворення слизових піхв і колоніального слизу навколо корінців рослин, що захищають останні фізично, а також поглинають і утримують воду разом із поживними речовинами. Встановлено, що мікроводорості продукують і виділяють у навколишнє середовище велику кількість різноманітних біологічно активних речовин, зокрема й тих, що проявляють алелопатичну дію (тобто впливають на ріст та розвиток рослин і мікроорганізмів) (Chiaiese et al., 2018). Показано, що мікроводорості продукують значно більше різноманіття алелопатично активних речовин порівняно з вищими рослинами (McClintock, Baker, 2001). Серед останніх найбільш дослідженими є вуглеводи, білки, жирні кислоти, вітаміни, фенольні сполуки, пептиди та алкалоїди (Sakevych, Usenko, 2008; Kirpenko, 2013; Uysal et al., 2015).

На сьогодні дослідженню агрономічних властивостей мікроводоростей присвячена порівняно невелика кількість робіт (Nichols, 2020). Аналіз наявних даних свідчить про те, що мікроводорості є невичерпним джерелом біологічно активних сполук з різним характером дії на вищі рослини (Chiaiese et al., 2018). Був проведений скринінг 22 штамів аборигенних ціанобактерій, ізольованих з природних місцезростань, щодо їх потенціалу покращувати родючість ґрунту, підвищувати продуктивність та стійкість сільськогосподарських рослин до шкідників (Didovich et al., 2020). Автори встановили, що кожен з досліджуваних ціанобактеріальних штамів є унікальним щодо агрономічного впливу і проявляє фізіологічні особливості, які визначають ступінь та характер впливу (стимулювання/інгібування) на бактеризовані рослини в рослинно-мікробній взаємодії. Виявлено значну кореляцію між деякими фізіологічними та біохімічними параметрами штамів ціанобактерій (рН культурального середовища; активність пероксидази; вміст антиоксидантів, зокрема глутатіону та аскорбінової кислоти) та їхніми агрономічними властивостями щодо *Triticum aestivum* L. (Didovich et al., 2020).

Відомо, що аборигенні штами мікроводоростей є, як правило, ефективнішими щодо покращення родючості та механічної структури ґрунту, а також пристосованішими до конкретних едафічних та кліматичних умов порівняно зі штамми з інших регіонів (Win et al., 2018).

Виробництво агропрепаратів на основі мікроводоростей майже не потребує невідновлювальних ресурсів і не шкодить навколишньому середовищу. Мікроводорості також придатніші для біотехнологічних удосконалень, особливо для метаболічної інженерії, порівняно з іншими багатоклітинними організмами (Chiaiese et al., 2018). Однак широкому застосуванню мікроводоростей у сільському господарстві заважає відсутність достатньої наукової інформації щодо екофізіологічних механізмів взаємовідносин із судинними рослинами, мікрофлорою та мікрофауною ґрунту. Більшість досліджень присвячена незначній кількості видів мікроводоростей, зокрема представникам родів *Arthrospira* spp., *Isochrysis* spp., *Chaetoceros* spp., *Dunaliella* spp., *Chlorella* spp. (Nichols, 2020). Разом з тим, величезна різноманітність видів аборигенних мікроводоростей залишається досі не дослідженою для використання в сільському господарстві (Chiaiese et al., 2018; Nichols, 2020).

Мета цього дослідження – проаналізувати вплив культуральної рідини аборигенного штаму харафітової ґрунтової водорості *Interfillum terricola* на життєвий стан рослин пшениці та кукурудзи, алелопатичні, мікробіологічні, агрофізичні та агрохімічні властивості ґрунту в модельних вегетаційних дослідах.

Матеріали та методи

Штам харафітової мікроводорості *Interfillum terricola* (порядок *Klebsormidiales*, клас *Klebsormidiophyceae*, *Charophyta*) ізольовано зі зразків ґрунту букових пралісів Карпатського біосферного заповідника у 2020 р. Отримання біомаси мікроводоростей та вирощування дослідженого штаму проводили за єдиною схемою культивування в конічних колбах Ерленмеєра об'ємом 250 та 500 мл на мінеральному середовищі Болда (1N BBM), при pH 6,6 (Bischoff, Bold, 1963) за стандартних умов лабораторного мінікультиватора (інтенсивне культивування з постійною барботацією повітряною сумішшю) протягом 10 діб, з 12-годинним чергуванням світлової і темної фаз та освітленням 25 мкмоль фотонів $\cdot$ м⁻² с⁻¹ за температури $+20 \pm 5$ °C (Tsarenko et al., 2021). Ідентифікацію виду та морфологічні дослідження культури водорості проводили за допомогою світлового мікроскопа Olympus BX53 (Токіо, Японія) з диференціальною інтерференційною оптикою Номарського (DIC) і використанням сучасних монографічних зведень (Mikhailyuk et al., 2008; Rindi et al., 2011; Ettl, Gärtner, 2014).

У вегетаційних дослідах моделювали вплив різних концентрацій (1, 3 та 10 мл на вегетаційну посудину ємністю 0,25 л) культуральної рідини

I. terricola на проростання насіння та ріст рослин пшениці озимої (*Triticum aestivum* L., сорт «Смуглянка») і кукурудзи кормової (*Zea mays* L., сорт «Кадр 267 МВ»), мікробіоценоз, алелопатичні, біохімічні, агрохімічні та агрофізичні властивості ґрунту. Перед початком експериментів сірий опідзолений ґрунт просіювали та стерилізували за температури 100 °C протягом 4 год. В контрольний варіант замість культуральної рідини вносили стерилізовану воду в тій же кількості. Перед посівом насіння тест-рослин стерилізували 1%-ним розчином гіпохлориту натрію протягом 5 хв, з наступним прополіскуванням стерилізованою водою. Тест-рослини вирощували у фітокамері (на базі відділу алелопатії Національного ботанічного саду імені М.М. Гришка НАН України) за контрольованих умов: інтенсивності світла 3500 люкс, температури 26–28 °C, вологості ґрунту 50–60% протягом трьох тижнів. Вологість ґрунту визначали гравіметричним методом та підтримували на зазначеному рівні, поливаючи стерилізованою (за температури 100 °C протягом 15 хв) водопровідною водою.

Кількість пророслого насіння реєстрували з 3-ї по 8-му добу після посіву. Енергію проростання насіння визначали як % пророслого насіння на 3-ю та 4-у добу після посіву, для пшениці та кукурудзи – відповідно. Схожість насіння – на 7-му добу для обох культур, згідно до ДСТУ 4138 (2002). Для визначення швидкості проростання розраховували середню тривалість проростання однієї насінини за наступною формулою (Balan et al., 2014):

$$ТП = (d_1K_1 + d_2K_2 + d_iK_i) / (K_1 + K_2 + K_3 + K_i),$$

де ТП – тривалість проростання, д – дні підрахунку, К – кількість насіння, що проросло на цей день.

Наприкінці експериментів визначали морфометричні показники росту (висота надземних частин, площа поверхні листків, довжина кореневої системи, кількість бічних корінців; біомаса сухої речовини надземних частин та коренів) та вміст фотосинтетичних пігментів (хлорофілів *a*, *b* та каротиноїдів) в листках. Останні екстрагували зі свіжозібраних листків диметилсульфоксидом за температури 70 °C протягом 3 год. Кількісний вміст визначали спектрофотометрично (Wellburn, 1994) за допомогою спектрофотометра Specord 200, Analytik Jena, 2003. Розвиток фотосинтетичного апарату рослин оцінювали за результатами морфометричних вимірювань і вмістом фотосинтетичних пігментів.

Мікробіологічні аналізи проводили методом посіву ґрунтових суспензій у відповідних розведеннях на агаризовані живильні середовища за загальноприйнятими методиками (Ellanska et al., 2021). Підраховували

кількість: бактерій, які споживають переважно мінеральні (крохмаль-аміачний агар (КАА) та органічні (м'ясо-пептонний агар (МПА) сполуки азоту; мікроміцетів (середовище Чапека), актиноміцетів (КАА). Співвідношення окремих еколого-трофічних груп мікроорганізмів (коефіцієнт мінералізації – іммобілізації) розраховували за К.І. Андреюк (Andreiuk et al., 2001), показник трансформації органічної речовини визначали за В.Д. Мухой (Mukha, 2004).

Загальна кількість колоній, яку підраховували при посівах ґрунтових суспензій, була обумовлена кількістю КУО (колонієутворюючих одиниць).

Алелопатичну активність ґрунту аналізували методами прямого біотестування та біологічних проб (водна витяжка з ґрунту 1,5 : 1) як приріст коренів крес-салату (*Lepidium sativum* L.) та огірка (*Cucumis sativus* L.) відповідно (Pavliuchenko, Jang, 2021). Цитостатичну дію водорозчинних сполук ґрунту досліджували за кількістю бічних коренів проростків *C. sativus* (Ivanov, 2011). Фенольні речовини виділяли з ґрунту методом іонного обміну (десорбції), використовуючи іонообмінник КУ-2-8 (H⁺) як модель кореневої системи з розчинною і поглинальною здатністю стосовно до рухливих органічних сполук (Pavliuchenko et al., 2021).

Вимірювання рН ґрунтового розчину після закінчення дослідів проводили на кондуктометрі Cond 315i (WTWGmbH, 2015 р.). Окисно-відновний потенціал визначали за допомогою приладу pH/ORP Meter HI 2211 (Hanna Instruments, 2005 р.). Вміст біогенних елементів у ґрунті аналізували на оптично-емісійному спектрометрі з індуктивно-зв'язаною плазмою iCAP6300 Duo (Thermo-Fisher, США, 2007 р.). Підготовку зразків ґрунту для аналізу виконували за методикою Рінкиса–Ноллендорфа (Rinkis, Nollendorf, 1982). Вміст розчинних карбонатів у ґрунтовому розчині визначали методом титрування сірчаною кислотою за додавання індикатора метилоранж до зміни забарвлення розчину з жовтого на помаранчевий (Pecheneva, 1998).

Статистичний аналіз результатів досліджень проводили з використанням дисперсійного аналізу за допомогою програмного забезпечення StatSoft Statistica 10.0 та Microsoft Office Excel 2007.

Результати та обговорення

Внесення культуральної рідини *I. terricola* позитивно впливало на енергію проростання насіння, ріст надземних частин і коренів пшениці та кукурудзи. Загалом, пшениця проявила більшу чутливість до алелопатичного впливу *I. terricola* порівняно з кукурудзою (табл. 1). Вміст фотосинтетичних пігментів не виявив достовірних змін за внесення

дослідженої культуральної рідини порівняно з контролем. Розмір стимулюючого ефекту на проростання насіння та накопичення біомаси тест-рослинами не залежав від норми внесення культуральної рідини *I. terricola*. Такий характер фізіологічної дії властивий алелопатично активним речовинам із сигнальним характером дії.

Таблиця 1. Вплив культуральної рідини *Interfillum terricola* на проростання насіння та ріст рослин пшениці та кукурудзи (середнє $\pm$ стандартна похибка)

Вид с.-г. культури	Норма внесення культуральної рідини, мл	Енергія проростання, %	Схожість, %	Середня тривалість проростання, доба	Площа поверхні листків, см ²	Середня тривалість проростання, доба	Маса сухої речовини, мг	
							надземної частини	кореня
<i>Triticum aestivum</i>	0	10 $\pm$ 0,8	85 $\pm$ 0,5	4,0 $\pm$ 0,1	9,2 $\pm$ 1,0	4,0 $\pm$ 0,1	13,7 $\pm$ 0,6	4,3 $\pm$ 0,3
	1	33 $\pm$ 0,7	83 $\pm$ 0,6	3,7 $\pm$ 0,2	12,5 $\pm$ 1,3	3,7 $\pm$ 0,2	17,9 $\pm$ 0,9	4,2 $\pm$ 0,3
	3	38 $\pm$ 0,6	88 $\pm$ 0,6	3,6 $\pm$ 0,1	13,4 $\pm$ 1,0	3,6 $\pm$ 0,1	19,1 $\pm$ 0,5	5,4 $\pm$ 0,2
	10	50 $\pm$ 0,9	83 $\pm$ 0,5	3,6 $\pm$ 0,2	14,3 $\pm$ 1,2	3,6 $\pm$ 0,2	18,5 $\pm$ 0,7	5,6 $\pm$ 0,4
<i>Zea mays</i>	0	38 $\pm$ 0,7	88 $\pm$ 0,9	4,9 $\pm$ 0,2	39,7 $\pm$ 1,7	4,9 $\pm$ 0,2	45,9 $\pm$ 1,4	20,2 $\pm$ 1,3
	1	42 $\pm$ 0,8	93 $\pm$ 0,8	4,6 $\pm$ 0,1	47,1 $\pm$ 1,4	4,6 $\pm$ 0,1	60,2 $\pm$ 1,6	29,3 $\pm$ 1,4
	3	41 $\pm$ 0,9	96 $\pm$ 0,7	4,7 $\pm$ 0,1	45,6 $\pm$ 1,8	4,7 $\pm$ 0,1	56,8 $\pm$ 1,5	24,3 $\pm$ 1,8
	10	44 $\pm$ 0,9	96 $\pm$ 0,9	4,7 $\pm$ 0,1	48,5 $\pm$ 1,3	4,7 $\pm$ 0,1	58,2 $\pm$ 1,8	23,5 $\pm$ 1,8

Стимулюючий вплив мікрободоростей на проростання насіння, ріст та продуктивність сільськогосподарських рослин представлено в низці робіт (Hastings et al., 2014; Uysal et al., 2015; Win et al., 2018). Зазвичай таку стимуляцію автори пов'язують із виділенням у навколишнє середовище фітогормонів (ауксинів, цитокінінів, амінокислот, брасінолідів тощо) (Win et al., 2018; Nichols, 2020). Разом з цим відомо, що окрім безпосереднього алелопатичного впливу мікрободорості можуть змінювати мікробіологічні, біохімічні, алелопатичні та фізичні властивості ґрунту, які в свою чергу

впливають на ріст та життєвий стан судинних рослин. Такий тип взаємовідносин відносять до опосередкованих алелопатичних взаємодій (Win et al., 2018; Nichols, 2020).

Мікробні ценози, як істотний компонент екосистем, виконують важливу біоіндикаційну функцію та стабілізаційну роль. Будучи редуцентами, мікроорганізми зумовлюють низку біохімічних процесів і стають важливим учасником перетворення різноманітних органічних і мінеральних речовин у ґрунті (Cerna et al., 2003). Враховуючи важливу роль мікробного компоненту у функціонуванні екосистем, чисельність та якісний склад деяких груп ґрунтових мікроорганізмів обрані нами як показники зміни ґрунтового середовища.

Результати аналізу ґрунтової мікрофлори показали, що кількість усіх досліджених еколого-трофічних груп мікроорганізмів, особливо мікроміцетів, під пшеницею була значно вищою, порівняно з кукурудзою (табл. 2).

Таблиця 2. Чисельність мікроорганізмів основних таксономічних та еколого-трофічних груп у зразках стерильного ґрунту (сірий опідзолений) з додаванням різної концентрації водорості *Interfillum terricola* (середнє $\pm$ стандартна похибка)

Вид с.-г. культури	Норма внесення культуральної рідини, мл	Мікроміцети, тис.	Актиноміцети, млн	Амоніфікатори, млн	Мікроорганізми, що споживають мінеральний азот, млн	Коефіцієнт мінералізації-імобілізації	Показник трансформації органічної речовини
<i>Triticum aestivum</i>	0	37,5 $\pm$ 1,7	3,3 $\pm$ 1,1	7,5 $\pm$ 1,0	15,1 $\pm$ 1,9	2,0	11,3
	1	23,2 $\pm$ 2,8	0,6 $\pm$ 0,1	5,8 $\pm$ 1,2	7,5 $\pm$ 0,5	1,3	10,2
	3	19,0 $\pm$ 3,4	4,1 $\pm$ 0,2	10,6 $\pm$ 1,5	10,2 $\pm$ 0,6	1,0	20,8
	10	20,6 $\pm$ 7,9	3,1 $\pm$ 0,3	14,1 $\pm$ 1,1	15,4 $\pm$ 1,1	1,1	26,8
<i>Zea mays</i>	0	11,6 $\pm$ 1,7	2,3 $\pm$ 0,2	5,4 $\pm$ 0,6	8,2 $\pm$ 0,8	1,5	9,1
	1	11,7 $\pm$ 3,9	2,2 $\pm$ 0,1	6,0 $\pm$ 0,2	8,5 $\pm$ 0,3	1,4	10,4
	3	11,5 $\pm$ 1,2	1,9 $\pm$ 0,2	9,4 $\pm$ 0,5	13,9 $\pm$ 1,2	1,5	15,5
	10	13,4 $\pm$ 1,1	2,2 $\pm$ 0,1	10,0 $\pm$ 0,8	15,4 $\pm$ 1,4	1,5	17,0

Пшениця та кукурудза відомі високим алелопатичним потенціалом, зумовленим присутністю бензоксазиноїдів та фенольних сполук (зокрема п-кумарової, бензойної, *транс*-4-гідроксикоричної кислот) (Guo et al.,

2016). Зазначені речовини проявляють також антифунгальну та антибактеріальну дію й беруть участь у захисті досліджених зернових культур від фітопатогенів та комах-шкідників. За літературними даними, мікроводорості, зазвичай стійкі до корневих виділень пшениці та кукурудзи. Останні навіть можуть стимулювати ріст мікроводоростей (Krafczyk et al., 1984; Kuznetsova et al., 2018). Завдяки цій особливості пшениця та кукурудза є перспективними об'єктами для створення стійких асоціацій з агрономічно корисними штамми мікроводоростей. Згідно до отриманих нами результатів, кореневі виділення кукурудзи мають сильнішу антифунгальну та антибактеріальну активність порівняно з пшеницею.

Додавання культуральної рідини в ґрунт, у якому вирощували пшеницю, спричиняло суттєве пригнічення розвитку ґрунтових грибів порівняно з контролем, особливо при внесенні 3 мл розчину. Щодо інших досліджених еколого-трофічних груп мікроорганізмів, то при додаванні мінімальної кількості культуральної рідини (1 мл) спостерігалось пригнічення розвитку актиноміцетів, амоніфікаторів та мікроорганізмів, що споживають різні форми азоту (рис. 1, див. табл. 2).

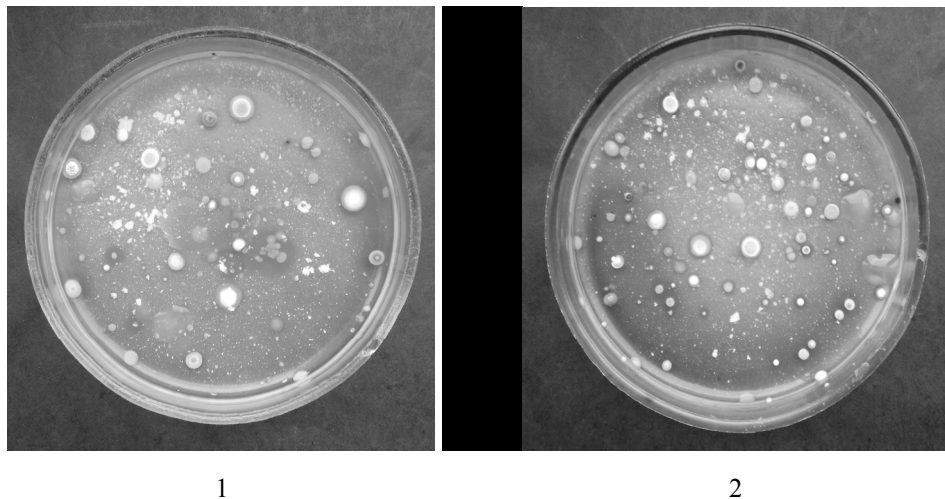


Рис. 1. Чисельність актиноміцетів та мікроорганізмів-іммобілізаторів мінерального азоту (середовище КАА) у ґрунтових зразках з-під *Triticum aestivum*: 1 – контроль; 2 – при додаванні 3 мл *Interfillum terricola* (фото Н.Е. Елланської)

Збільшення норми внесення культуральної рідини призводило до зростання чисельності досліджених груп мікроорганізмів. У деяких випадках чисельність мікроорганізмів перевищувала відповідні показники

в контролі. Таку тенденцію можна пояснити, якщо припустити, що незначна кількість *I. terricola* стимулює біосинтез та виділення в середовище навколо кореня антифунгальних та антибактеріальних алелопатично активних речовин пшеницею. Тому спостерігали пригнічення всіх досліджених груп мікроорганізмів. У разі внесення більшої кількості *I. terricola* збільшувалися обсяги детоксикації екзометаболітів пшениці мікрородорістю. Мікрородорості відомі здатністю детоксикувати антибіотики та інші токсичні речовини шляхом біoadсорбції, біоаккумуляції та біодеструкції. Нині зростає зацікавленість вчених до застосування мікрородоростей для очищення стічних вод від токсичних речовин, зокрема антибіотиків (Xiong et al., 2021).

Мікробіологічний аналіз ґрунту, на якому вирощували кукурудзу (див. табл. 1), виявив подібну закономірність. Окрім актиноміцетів, чисельність яких достовірно не змінювалася за внесення культуральної рідини, кількісні показники усіх досліджених груп мікроорганізмів достовірно зростали за внесення культуральної рідини *I. terricola* пропорційно зростанню дози внесення останнього. Прослідковується загальна тенденція у всіх варіантах дослідів: найменші показники трансформації органічної речовини у ґрунті за внесення мінімальної дози культуральної рідини *I. terricola* і зростання їх зі збільшенням концентрації (сягає контрольних показників або перевищує).

Таблиця 3. Вплив культуральної рідини *Interfillum terricola* на алелопатичні та цитостатичні властивості ґрунту з-під пшениці та кукурудзи, % контролю (середнє $\pm$ стандартна похибка)

Вид с.-г. культури	Норма внесення культуральної рідини, мл	Цитостатична дія	Алелопатична активність	
			<i>Lepidium sativum</i>	<i>Cucumis sativus</i>
<i>Triticum aestivum</i>	1	94,6 $\pm$ 1,9	91,5 $\pm$ 1,8	74,7 $\pm$ 1,5
	3	98,0 $\pm$ 2,0	95,9 $\pm$ 1,9	92,2 $\pm$ 1,8
	10	108,1 $\pm$ 2,2	111,9 $\pm$ 2,2	99,0 $\pm$ 2,0
<i>Zea mays</i>	1	89,6 $\pm$ 1,8	85,2 $\pm$ 1,7	73,2 $\pm$ 1,5
	3	96,9 $\pm$ 1,9	90,2 $\pm$ 1,8	86,2 $\pm$ 1,7
	10	110,1 $\pm$ 2,2	115,2 $\pm$ 2,3	108,2 $\pm$ 2,2

Досліджували алелопатичні й біохімічні властивості ґрунту. Алелопатична активність водорозчинних сполук ґрунту змінювалася в залежності від концентрації культуральної рідини (табл. 3). Так, при нормі

внесення 1 та 3 мл встановлено пригнічення росту коренів тест-рослин *C. sativus* на 8–27%, що нівелювалося при 10 мл.

Аналогічна тенденція спостерігалася шляхом визначення алелопатичної активності ґрунту методом прямого біотестування. При цьому пригнічення ростових процесів коренів *L. sativum* складало 4–15% й було найменшим при додаванні 3 мл культуральної рідини. При нормі 10 мл переважали ріст-стимулюючі ефекти у межах 12–15%. Цитостатичні властивості фізіологічно активних сполук ґрунту характеризувалися посиленням проліферації клітин бічних коренів *C. sativus* при внесенні 10 мл культуральної рідини. Загалом, простежувалося зниження алелопатичної та цитостатичної дії фізіологічно активних сполук ґрунту на тлі збільшення концентрації культуральної рідини *I. terricola*.

Оскільки фенольні сполуки як вторинні метаболіти продукуються багатьма мікроводоростями, сільськогосподарськими культурами, у тому числі кукурудзою та пшеницею, й здатні виконувати алелопатичну функцію (Li et al., 2010), аналізували вплив культуральної рідини *I. terricola* на їхній вміст у ґрунті під досліджуваними рослинами. При внесенні 1 мл культуральної рідини спостерігалось підвищення концентрації фенольних сполук у 1,2 раза в ґрунті під пшеницею і кукурудзою (рис. 2).

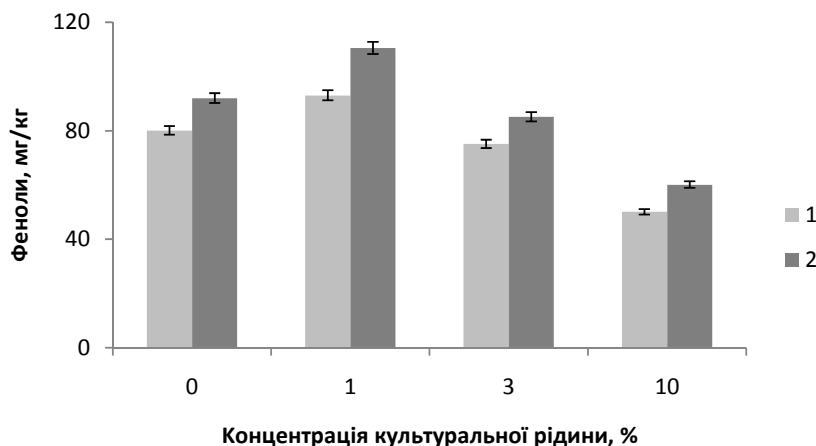


Рис. 2. Вміст фенольних сполук у ґрунті під кукурудзою та пшеницею при внесенні культуральної рідини *Interfillum terricola*: 1 – *Zea mays* сорт «Кадр 267 МВ»; 2 – *Triticum aestivum* сорт «Смуглянка»

У подальшому їхній рівень поступово знижувався у 1,1–1,6 раза, причому максимально під впливом 10 мл культуральної рідини, що, очевидно, є результатом активізації мікробіоти й посилення внаслідок цього деструктивних процесів.

Аналіз агрофізичних та агрохімічних показників ґрунту показав суттєве підвищення електропровідності ґрунту, концентрації йонів Ca та Mg у ґрунтовому розчині. Вміст органічного вуглецю та HCO_3 проявили невелику тенденцію до зростання, а окисно-відновний потенціал – до зниження за внесення мікрододатків. Рівень впливу мікрододатків позитивно залежав від концентрації культуральної рідини. Зазначені зміни агрофізичних та агрохімічних характеристик ґрунту підтверджують активізацію мінералізаційних та трансформаційних процесів за внесення культуральної рідини мікрододатків.

Таблиця 4. Агрофізичні та агрохімічні властивості ґрунту при вирощуванні пшениці озимої та кукурудзи кормової за внесення культуральної рідини *Interfillum terricola*

Вид с.-г. культури	Норма внесення культуральної рідини, мл	ОВП, мВ	ЕС, мСм	HCO_3 , мг·екв.	$\text{pH}_{\text{сол}}$	C, %	Ca, мг/л	Mg, мг/л
<i>Triticum aestivum</i>	0	113 ± 0,9	0,97 ± 0,02	0,4 ± 0,1	7,01 ± 0,11	4,22 ± 0,02	5497,8 ± 2,1	609,6 ± 2,2
	1	103 ± 0,7	1,09 ± 0,01	0,5 ± 0,1	7,03 ± 0,02	4,25 ± 0,03	6164,2 ± 3,3	812,8 ± 2,6
	3	104 ± 0,4	1,11 ± 0,03	0,6 ± 0,2	7,04 ± 0,02	4,34 ± 0,03	6234,9 ± 3,0	1016,5 ± 3,1
	10	105 ± 0,2	1,20 ± 0,03	0,7 ± 0,2	7,06 ± 0,04	4,44 ± 0,02	6375,1 ± 2,7	1727,2 ± 2,7
<i>Zea mais</i>	0	129 ± 3,5	0,73 ± 0,06	0,3±0,1	7,09 ± 0,02	3,46 ± 0,04	6694 ± 3,4	2485 ± 4,8
	1	127 ± 2,7	0,68 ± 0,01	0,4±0,1	7,07 ± 0,05	3,58 ± 0,03	7362 ± 4,1	2631 ± 4,9
	3	125 ± 1,7	0,71 ± 0,06	0,5±0,2	7,14 ± 0,04	3,65 ± 0,02	8111 ± 3,9	2550 ± 3,7
	10	124 ± 1,9	0,77 ± 0,06	0,5±0,2	7,01 ± 0,03	3,74 ± 0,03	9919 ± 2,7	2790 ± 5,2

Висновки

Проведено комплексне дослідження впливу *Interfillum terricola* на алелопатичний режим, мікробіоценоз, агрофізичні та агрохімічні властивості ґрунту. Встановлено позитивний ефект на проростання

насіння, ріст та розвиток поверхні асиміляційних органів тест-рослин пшениці та кукурудзи. Алелопатична та цитостатична дія фізіологічно активних сполук ґрунту знижувалася на тлі збільшення концентрації культуральної рідини *I. terricola*. Внесення культуральної рідини водорості *I. terricola* суттєво впливало на чисельність мікроорганізмів, що належать до різних еколого-трофічних груп. Загальна тенденція у всіх варіантах досліджу: найменша чисельність мікроорганізмів при додаванні мінімальної норми внесення культуральної рідини (1 мл) і зростання їх зі збільшенням останньої.

Подібна закономірність виявлена також для показників трансформації органічної речовини. Відзначена тенденція засвідчує властивість дослідженої мікроводорості детоксикувати антифунгальні та антибактеріальні речовини кореневих виділень тест-рослин, що також сприяє поліпшенню мінералізаційних процесів у ґрунті та покращенню алелопатичного режиму. Під впливом культуральної рідини вміст фенольних сполук у ґрунті знижувався у 1,1–1,6 раза, особливо за норми внесення культуральної рідини 10 мл, що, ймовірно, є наслідком активізації мікробіоти й пов'язаних з цим процесів деструкції. Зміни показників електропровідності, окисно-відновного потенціалу, рН та біодоступності біогенних елементів у ґрунті за внесення культуральної рідини *I. terricola* підтверджують цей висновок. Вплив *I. terricola* на алелопатичний режим, біохімічні, фізичні властивості ґрунту та доступність біогенних елементів частково пояснюють стимулюючий ефект цієї мікроводорості на пшеницю та кукурудзу.

Список літератури

- Andreiuk K.I., Iutynska H.O., Antypchuk A.F., Valahurova O.V., Kozhyrskyi V.Ye., Ponomarenko S.P. 2001. *Functioning of microbial coenoses of soil in the conditions of anthropogenic loading*. Kyiv: Oberehy. 240 p. [Андреюк К.І., Іутинська Г.О., Антипчук А.Ф., Валагурова О.В., Козирицька В.Є., Пономаренко С.П. 2001. *Функціонування мікробних ценозів ґрунту в умовах антропогенного навантаження*. Київ: Обереги. 240 с.].
- Balan V.M., Doronin V.A., Kulyk O.H., Zmievskiy V.M. 2014. In: *Scientific works of the Institute of Bioenergy Crops and Sugar Beets*. Kyiv. Pp. 14–17. [Балан В.М., Доронін В.А., Кулік О.Г., Змієвський В.М. 2014. До питання методики оцінки та добору вихідних селекційних матеріалів цукрових буряків за ознакою репродуктивної системи та життєздатності насіння. В кн.: *Наукові праці Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків*. Київ. С. 14–17].
- 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.

- Cerna B., Elhottova D., Santruckova H. 2003. In: *International Symposium on "Structure and Function of Soil Microbiota"*. Pp. 3–6. <https://www.yumpu.com › view>
- Chiaiese P., Corrado G., Colla G., Kyriacou M.C., Roupael Y. 2018. Renewable sources of plant biostimulation: microalgae as a sustainable means to improve crop performance. *Front. Plant Sci.* 9: 1782. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01782>
- Didovich S.V., Alekseenko O.P., Pas' A.N., Didovich A.N. 2020. *Phototrophic microorganisms for agricultural technology and food security*: Mat. 6th Int. Conf. *Earth Environ. Sci.* 422: 012042.
- Ellanska N.E., Yunosheva O.P., Miao T. 2021. In: *Modern methods in allelopathic research: Methodical manual*. Kyiv: Lira-K. Pp. 107–116. [Елланська Н.Е., Юношева О.П., Мiao T. 2021. Методи мікробіологічного аналізу ґрунту. В кн.: *Сучасні методи в алелопатичних дослідженнях: Методичний посібник*. Київ: Ліра-К. С. 107–116].
- Ettl H., Gärtner G. 2014. *Syllabus der Boden-, Luft- und Flechtenalgen*. 2nd ed. Munich: Spektrum Akad. Verlag. 773 p.
- Guo B., Zhang Y., Li S., Lai T., Yang L., Chen J., Ding W. 2016. Extract from Maize (*Zea mays* L.): Antibacterial activity of DIMBOA and its Derivatives against *Ralstonia solanacearum*. *Molecules*. 21(10): 1397. <https://doi.org/10.3390/molecules21101397>
- Hastings K.L., Smith L.E., Lindsey M.L., Blotsky L.C., Downing G.R., Zellars D.Q., Downing J.K., Corena-McLeod M. 2014. Effect of microalgae application on soil algal species diversity, cation exchange capacity and organic matter after herbicide treatments. *F1000Research*. 3: 281. <https://doi.org/10.12688/f1000research.4016.1>
- Hollerbach M.M., Shtina E.A. 1969. *Soil algae*. Leningrad: Nauka. 228 p. [Голлербах М.М., Штина Э.А. 1969. *Почвенные водоросли*. Л.: Наука. 228 с.].
- Ivanov V.B. 2011. Using the roots as test objects for the assessment of biological action of chemical substances. *Rus. J. Plant Physiol.* 58(6): 1082–1089. <https://doi.org/10.1134/S1021443711060082>
- Jaiswal P., Prasanna R., Nayak S., Sood A., Suseela M.R. 2008. Characterization of rhizocyanobacteria and their associations with wheat. *Egy. J. Biol.* 10: 20–27.
- Kirpenko N.Y. 2013. *Allelopathic interaction of freshwater algae*. Kyiv: Naukova Dumka. 255 p. [Кирпенко Н.И. 2013. *Алелопатическое взаимодействие пресноводных водорослей*. Киев: Наук. думка. 255 с.].
- Kostikov I.Yu. 1991. The place of soil algae in phytocenoses. *Algologia* 1(2): 93–97. [Костиков И.Ю. Место почвенных водорослей в фитоценозах. *Альгология*. 1(2): 93–97].
- Krafczyk I., Tolldeiner G., Beringer H. 1984. Soluble root exudates of maize: influence of potassium supply and rhizosphere microorganisms. *Soil Biol. Biochem.* 16: 315–322.
- Kuznetsova Y.A., Bozhkov A.I., Menzyanova N.G., Goltvyansky A.V., Azeev Z.A. 2018. Root exudates of wheat seedlings express antibacterial and antioxidant activity and stimulate proliferation of liver cells. *Indian J. Nat. Prod. Res.* 9: 303–310.
- Li Z.-H., Wang Q., Ruan X., Pan C.-D., Jiang, D.-A. 2010. Phenolics and plant allelopathy. *Molecules*. 15(12): 8933–8952. <https://doi.org/10.3390/molecules15128933>

- Maltseva I.A. 2007. Soil algae as a part of the functional ecosystems' structure. *Gruntoznavstvo*. 8(3–4): 71–79. [Мальцева І.А. Ґрунтові водорості у функціональній структурі біогеоценозів. *Ґрунтознавство*. 8(3–4): 71–79].
- McClintock J.B., Baker B.J. 2001. *Marine chemical ecology*. Boca Raton, FL: CRC Press. 609 p.
- Mikhailyuk T.I., 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.
- Mukha V.D. 2004. *Natural-anthropogenic evolution of soils*. Moscow: Kolos. 271 p. [Муха В.Д. *Естественно-антропогенная эволюция почв*. М.: Колос. 271 p.].
- Nichols K. 2020. *Microalgae as a beneficial soil amendment*. Myland Company LLC. 5 p.
- Pavliuchenko N.A., Didyk N.P., Li L. 2021. In: *Modern methods in allelopathic research: Methodical manual*. Kyiv: Lira-K. Pp. 117–147. [Павлюченко Н.А., Дідик Н.П., Лі Л. Колориметричні методи аналізу алелопатично активних речовин у рослинному матеріалі та ґрунті. В кн.: *Сучасні методи в алелопатичних дослідженнях. Методичний посібник*. Київ: Ліра-К. С. 117–147].
- Pavliuchenko N.A., Jang X. 2021. In: *Modern methods in allelopathic research: Methodical manual*. Kyiv: Lira-K. Pp. 74–89. [Павлюченко Н.А., Янг Х. 2021. Методи експрес-оцінювання алелопатичної активності (біотести). В кн.: *Сучасні методи в алелопатичних дослідженнях: Методичний посібник*. Київ: Ліра-К. С. 74–89].
- Pecheneva S.Ia. 1998. Agrochemical analysis methods. *Havrysh*. 4: 24–26. [Печенева С.Я. Методы агрохимического анализа. *Гавриш*. 4: 24–26].
- Rindi F., Mikhailyuk T.I., Sluiman H.J., Friedl T., López-Bautista J.M. 2011. Phylogenetic relationships in *Interfilum* and *Klebsormidium* (*Klebsormidiophyceae*, *Streptophyta*). *Mol. Phylog. Evol.* 58: 218–231.
- Rinkis H.Ia., Nollendorf V.F. 1982. *Balanced nutrition of plants with macro- and microelements*. Riga: Zynatne. 202 p. [Ринькис Г.Я., Ноллендорф В.Ф. 1982. *Сбалансированное питание растений макро- и микроэлементами*. Рига: Зинатне. 202 с.].
- Sakevych O.I., Usenko O.M. 2008. *Allelopathy in hydroecosystems*. Kyiv: Logos. 342 p. [Сакевич О.Й., Усенко О.М. 2008. *Алелопатія в гідроекосистемах*. Київ: Логос. 342 с.].
- Sood A., Singh P.K., Kumar A., Singh R. 2011. Growth and biochemical characterization of associations between cyanobionts and wheat seedlings in co-culturing experiments. *Biologia*. 66: 104–110. <https://doi.org/10.2478/s11756-010-0133-4>
- Tsarenko P.M., Zaimenko N.V., Didyk N.P., Ivanytska B.O., Kharytonova I.P., Demchenko E.M. 2021. Allelopathic effect of microalgae on winter wheat plants. *Algologia*. 31(3): 215–227. [Царенко П.М., Заїменко Н.В., Дідик Н.П., Іваницька Б.О., Харитоновна І.П., Демченко Е.М. 2021. Алелопатичний вплив мікроводоростей на пшеницю озиму. *Альгологія*. 31(3): 215–227]. <https://doi.org/10.15407/alg31.03.215>
- Uysal Ö., Ozdemir F., Ekinici K. 2015. Evaluation of Microalgae as Microbial Fertilizer. *Eur. J. Sustain. Dev.* 4: 77–82. <https://doi.org/10.14207/ejsd.2015.v4n2p77>

- Wellburn A.R. 1994. The spectral determination of chlorophylls *a* and *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *J. Plant Physiol.* 144: 307–313. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)81192-2](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81192-2)
- Win T.T., Barone G.D., Secundo F., Fu P. 2018. Algal biofertilizers and plant growth stimulants for sustainable agriculture. *Ind. Biotechnol.* 14: 203–211. <https://doi.org/10.1089/ind.2018.0010>
- Xiong Q., Hu L.-X., Liu Y.-S., Zhao J.-L., He L.-Y., Ying G.-G. 2021. Microalgae-based technology for antibiotics removal: From mechanisms to application of innovational hybrid systems. *Environ. Int.* 155: 106594. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106594>

Підписала до друку Н.Є.Семенюк

Tsarenko P.M.¹, Zaimenko N.V.², Didyk N.P.², Ellanska N.E.², Pavlyuchenko N.A.,² Ivanytska B.O.², Yunosheva O.P.², Demchenko E.M.¹. 2021. **The effect of culture medium of *Interfillum terricola* (J.B.Petersen) Mikhailyuk et al. (Charophyta) on allelopathic, microbiological, agrophysical and agrochemical characteristics of soil.** *Algologia.* 31(4): 320–336

¹M.G. Kholodny Institute of Botany, NAS of Ukraine,

2 Tereshchenkivska Str., Kyiv 01601, Ukraine

²M.M. Grishko National Botanical Garden, NAS of Ukraine,

1 Tymiryazevska Str., Kyiv 01014, Ukraine

The influence of the cultural medium of the charophyte *Interfillum terricola* on the allelopathic, microbiological, agrophysical and agrochemical properties of the soil have been studied in model pot experiments. Allelopathic soil regime was assessed by biological testing methods for water-soluble compounds and direct biotesting, as well as by vital indicators of plants-phytometers of winter wheat (*Triticum aestivum* L., variety "Smuglyanka") and fodder corn (*Zea mays* L., variety "Kadr 267 MB). The seeds were sown immediately after the introduction of the culture fluid. The number of germinated seeds was recorded from the 2nd to the 8th day after sowing. The vital condition of phytometer plants was evaluated at the end of the experiments by morphometric indicators of growth (leaf surface area, dry matter biomass of aboveground parts and roots) and the content of photosynthetic pigments in the leaves. When the experiment was completed, soil samples were taken to determine the cytostatic effect of water-soluble compounds and to carry out microbiological and biochemical analyzes. Phenolic compounds were isolated from the soil by ion exchange (desorption) using an ion exchanger KU-2-8 (H⁺). In parallel, the electrical conductivity, redox potential, pH and content of nutrients in the soil were determined. The stimulating effect of cultural medium on seed germination, growth and development of assimilation organs of wheat and corn plants has been revealed. The strength of the effect did not depend on the concentration of growing medium, which is characteristic of signal allelopathically active substances. Allelopathic and cytostatic activity of the soil decreased with the use of *Interfillum terricola* growing medium. The introduction of the cultural fluid significantly affected

the number of microorganisms of different ecological and trophic groups. The lowest number of microorganisms was observed at the minimum rate of introduction of microalga medium, and its increase contributed to the growth of the number of almost all studied groups of microorganisms, indicators of transformation and mineralization of organic matter. Under the influence of the cultural medium, the content of phenolic compounds in the soil decreased by 1.1–1.6 times, especially at the norm of 10 mL. The soil treated with cultural fluid had higher rates of transformation and mineralization of organic matter than untreated. The concentration of phenolic compounds in the soil decreased, apparently, due to the activation of the microbiota resulting in the intensification of the destruction processes. An increase in the electrical conductivity of the soil with the introduction of microalgae inoculum was recorded, which may indicate the release of metal ions into the substrate. This confirms the increase in Ca and Mg.

Key words: *Interfillum terricola*, allelopathic interactions, winter wheat, phenolic substances, microbiocenosis, nutrients

Роль карбоангідраз у механізмах концентрування карбону водних фотоавтотрофів

Поліщук О.В.

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

Надійшла до редакції 02.08.2021. Після доопрацювання 18.10.2021. Підписана до друку 19.10.2021.
Опублікована 22.12.2021

Реферат. Розглядається декілька ролей карбоангідраз (КА) у засвоєнні неорганічного карбону (C_n) ціанобактеріями, мікрободоростями та макрофітами в умовах дефіциту C_n . Повільна дифузія C_n у водному середовищі зумовлює необхідність у механізмах концентрування карбону (МКК, т.з. механізмів концентрування CO_2) у водних фотоавтотрофів для транспортування C_n проти градієнту та забезпечення постачання CO_2 для фотосинтезу. Існують спільні вимоги для ефективного функціонування МКК у ціанобактеріях, водоростях та водних судинних рослинах, які включають активний транспорт HCO_3^- до C_n -концентрувального компартменту та утворення CO_2 з пулу HCO_3^- у субкомпартменті, збагаченому Рубіско. Полегшуючи дифузію C_n у водних розчинах та крізь ліпідні бішари, КА відіграють істотну роль у МКК, які найкраще вивчені у ціанобактерій, зелених та діатомових водоростей. Роль карбоангідраз у МКК залежить від їх локалізації та включає полегшення активного трансмембранного поглинання C_n шляхом його постачання на зовнішній поверхні (Роль 1) та видалення на внутрішній поверхні (Роль 2), а також прискорення утворення CO_2 з HCO_3^- поблизу Рубіско (Роль 3) у спеціальному герметичному для CO_2 компартменті – карбоксисомі у ціанобактеріях або піреноїді у мікрободоростях. Компартменталізація КА має вирішальне значення, оскільки їх активність у HCO_3^- -концентрувальному компартменті легко може зняти градієнт C_n , створений МКК.

Ключові слова: мікрободорості, ціанобактерії, макрофіти, фотосинтез, піреноїд, карбоксисома, неорганічний карбон, механізми концентрування карбону, карбоангідраза

Вступ

Після різкого зниження концентрації CO_2 в атмосфері приблизно в 20 разів, починаючи з 350 млн років тому і до кайнозойської ери (65 млн років тому,

© Поліщук О.В., 2021

Berner, 2006), пасивна дифузія CO_2 зі спонтанним перетворенням $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$ не могла задовольнити потребу фотосинтезу та забезпечити виживання фотосинтезуючих рослин. Виникла потреба у ферментативному полегшенні транспортування та концентрування CO_2 . Оскільки більшість груп фотосинтетичних організмів на той час вже були диверсифіковані, у них в процесі еволюції почали виникати різноманітні механізми концентрування карбону (МКК), що є яскравим прикладом конвергентної еволюції (Kenrick, Crane, 1997; Giordano et al., 2005; Price et al., 2008; Vats et al., 2011; Zabaleta et al., 2012). Існування МКК вперше було виявлено у *Anabaena variabilis* Kütz. та *Chlamydomonas reinhardtii* P.A.Dang. (Badger et al., 1978). К. Айзава та С. Міячі вперше запровадили та обґрунтували термін "механізм концентрування CO_2 ", тобто механізм, що забезпечує накопичення великої кількості CO_2 та HCO_3^- (разом – неорганічного карбону, $\text{C}_\text{н}$) всередині клітин за умов дефіциту $\text{C}_\text{н}$ (Aizawa, Miyachi, 1986).

Термін "механізм концентрування CO_2 " використовується переважно стосовно мікроводоростей та ціанобактерій (Badger et al., 1992; Kaplan, Reinhold, 1999; Badger, 2003), хоча його також відносять до C_4 - та САМ-метаболізму у вищих рослин (Berry, Farquhar, 1978; Hatch, 1987; Badger et al., 1998). Також Е. Zabaleta зі співавт. (2012) припустили існування "базального МКК", в якому мітохондріальні карбоангідрази (КА) використовуються для реасиміляції CO_2 , що утворюється при диханні. Такий механізм, ймовірно, функціонує у багатьох групах фотосинтезуючих організмів, включаючи наземні рослини з C_3 -фотосинтезом.

Карбоангідрази відіграють ключову роль в організації та функціонуванні МКК водних рослин завдяки здатності полегшувати транспортування та доставку $\text{C}_\text{н}$ до Рубіско – ферменту, що фіксує CO_2 (Aizawa, Miyachi, 1986; Badger et al., 1992; Coleman, 2000; Badger, 2003; von Caemmerer et al., 2004; Price et al., 2008).

Як правило, МКК включають три етапи: (i) активне поглинання HCO_3^- або пасивне рН-залежне поглинання CO_2 клітинами, (ii) накопичення $\text{C}_\text{н}$ у концентрувальному компартменті (цитоплазма у прокаріотів або строма хлоропласту в еукаріотів), переважно у формі HCO_3^- та (iii) утворення CO_2 з HCO_3^- у герметичному для CO_2 субкомпартменті, що містить Рубіско (карбоксисома у ціанобактеріях або піреноїд у мікроводоростях) для поповнення CO_2 , спожитого Рубіско.

На першому етапі КА виконують дві важливі ролі:

Роль 1 включає полегшення дифузії $\text{C}_\text{н}$ з навколишнього середовища та швидке поповнення пулу HCO_3^- шляхом гідратації CO_2 на поверхні клітини у разі активного поглинання HCO_3^- ;

Роль 2 – видалення CO_2 на внутрішній поверхні клітинної мембрани та запобігання його витоку шляхом перетворення в HCO_3^- , оскільки ліпідні мембрани непроникні для HCO_3^- .

Другий етап вимагає відсутності КА у C_n -концентрувальному компартменті для забезпечення утримання C_n , отже строга компартменталізація КА є життєво необхідною для ефективної роботи МКК.

На третьому етапі КА грають Роль 3, каталізуючи утворення CO_2 з HCO_3^- для забезпечення ефективної роботи Рубіско та беручи участь у структурній організації герметичного для CO_2 компартменту.

Біохімічна характеристика карбоангідраз рослин

Карбоангідрази (карбонат гідроліаза, КФ 4.2.1.1) – це металоферменти, що містяться у всіх живих організмах і каталізують взаємоперетворення CO_2 та HCO_3^- . Усі КА належать до восьми родин білків – α , β , γ , δ , ζ , η , θ та ι , які еволюціонували з різних джерел, що є чудовим прикладом конвергентної еволюції (Polishchuk, 2021). Усіх їх, крім η КА, було виявлено в рослинах. α -, β - та γ КА виявлено у судинних рослинах, де вони добре представлені у більшості органів, тканин та клітинних компартментах. Крім цих родин δ -, ι - та ζ КА виявили у морських діатомових водоростях, тоді як θ - та ι КА також були знайдені в інших групах водоростей та ціанобактерій (DiMario et al., 2018; Jensen et al., 2019; Hirakawa et al., 2021). Різні родини КА подібні за структурою своїх активних центрів, хоча мають низьку гомологію за амінокислотними послідовностями. Архітектура активного центру КА, як правило, передбачає Zn^{2+} , оточений тетраедром лігандів – три амінокислотні залишки та молекула води або гідроксид-іон як четвертий ліганд. γ -, δ - та ζ КА є камбіалістичними, тобто можуть містити Cd^{2+} , Co^{2+} і навіть Fe^{2+} замість Zn^{2+} в активному центрі (Jensen et al., 2020). δ - та ζ КА широко розповсюджені в океанічних видах, що пов'язано із глобальним дефіцитом Zn^{2+} у поверхневому шарі океану (Morel et al., 2020). З тієї ж причини ι КА, що містять Mn^{2+} в активному центрі, присутні у морських видах фітопланктону (Jensen et al., 2020). Карбоангідрази рослин можна розділити на α - та β -подібні за амінокислотним складом метал-координаційної сфери (Polishchuk, 2021). α -подібні КА включають α -, γ - та δ КА з формулою $\text{Zn}(\text{His})_3(\text{X})$. β -подібні КА включають β -, ζ - та θ КА. Йоном металу в ζ КА зазвичай є Cd^{2+} . Нещодавно було охарактеризовано нову безметалеву КА у ціанобактерії *Anabaena* sp. PCC7120 та хлораракніофітової водорості *Bigeloviella natans* Moestrup, яка є окремим різновидом ι КА (Hirakawa et al., 2021). Такі КА, ймовірно, експресуються у багатьох бактеріях та водоростях і мають активні центри з унікальною конусоподібною структурою бочки $\alpha + \beta$ (Hirakawa et al., 2021).

Головною рисою КА є каталіз взаємоперетворення CO_2 та HCO_3^- , а отже полегшення дифузії C_n та H^+ всередині клітинних компартментів та між ними (Tholen, Zhu, 2011), що можна назвати транспортною функцією КА. Крім того, деякі КА мають регуляторні функції, взаємодіючи з сигнальними каскадами. Наприклад, деякі β КА зв'язують саліцилову кислоту та білки її сигнального шляху (Medina-Puche et al., 2017). β КА можуть зазнавати таких посттрансляційних модифікацій, як S-нітрозилювання, нітрування, фосфорилування та відновлення–окиснення тіолових груп, які впливають на ферментативну активність і можуть бути важливими для участі в регуляції метаболічних шляхів (Polishchuk, 2021). Завдяки різним біохімічним властивостям КА можуть брати участь у багатьох фізіологічних процесах у рослинах, переважно пов'язаних з фотосинтезом. Такі процеси включають МКК, провідність мезофілу для CO_2 , дихання та фотодихання, транспорт електронів у хлоропластах, а також регуляцію закриття продихів та засвоєння бікарбонату у наземних рослинах. Крім того, КА можуть брати участь у таких нефотосинтетичних процесах, як біосинтез ліпідів та амінокислот, диференціація клітин, антиоксидантний захист, сигнальні шляхи фітогормонів, реакції на біотичні та абіотичні стреси.

Ціанобактерії

У ціанобактерій МКК складаються з систем транспортування C_n та карбоксисом (рис. 1). Карбоксисоми – це унікальні мікрокомпоненти, які містять Рубіско, білкову оболонку з низькою проникністю для CO_2 та КА, що забезпечує локальне збільшення концентрації CO_2 . За механізмами поглинання та фіксації CO_2 , структурою та еволюційним походженням карбоксисом існує 2 групи – α - та β -ціанобактерії, які містять, відповідно, α - та β -карбоксисоми. Екологічні характеристики організмів також пов'язані з наявністю певного типу карбоксисом: α - та β -ціанобактерії є переважно океанічними та прісноводними відповідно.

Позаклітинні КА та постачання CO_2 на поверхню клітини. Виникнення позаклітинних α - та β КА в утворюючих мати ціанобактеріях із лужних озер може бути пов'язане з підвищеною лужністю водного середовища. Коли середовище є більш лужним, ніж цитоплазма, C_n захоплюється іззовні у вигляді HCO_3^- , який не може проникати крізь мембрану. Рівноважна концентрація CO_2 у цитоплазмі за таких умов вища за позаклітинну, що сприяє витоку CO_2 . Зовнішні КА можуть зменшити цю втрату, негайно перетворюючи його на HCO_3^- поблизу мембранно-локалізованих специфічних транспортерів HCO_3^- (Роль 1).

Позаклітинна КА активність у *Microcoleus chthonoplastes* Thuret ex Gomont стимулювалася інкубацією при лужному рН, що підтверджує це припущення (Kupriyanova et al., 2007, 2011). Ця активність була пов'язана з передбачуваною α КА (Cah-3-подібним ферментом) у глікокаліксі та β КА у

периплазматичному просторі (CahB1, Kupriyanova et al., 2011). Так само дефіцит C_n стимулював активність периплазматичної α КА *ecaA* у *Cyanothece* sp., ймовірно, завдяки трансляційній регуляції (Kupriyanova et al., 2019).

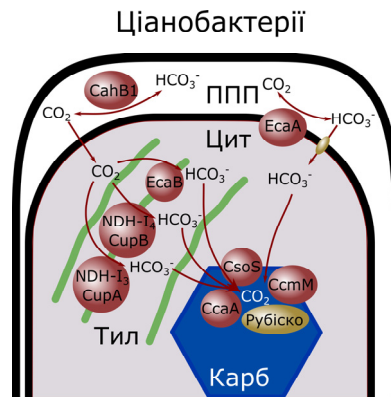


Рис. 1. Схематичне зображення участі карбоангідраз у механізмах концентрування карбону у ціанобактерій. Тут і в наступних рисунках: ППП – периплазматичний простір, Цит – цитоплазма, Тил – тилакоїди, Карб – карбоксисома

У *Phormidium kuetzingianum* (Kirchner ex Hansgirg) Anagnostidis & Komárek активність позаклітинної КА обернено залежала від зовнішньої концентрації HCO_3^- , а гідрофільний інгібітор КА ацетазоламід, не здатний проникати крізь біологічні мембрани, зменшував фотосинтетичну активність (Li et al., 2018). У сукупності ці дані свідчать про те, що позаклітинна активність КА бере участь у МКК і необхідна для ефективного фотосинтезу.

Полегшення поглинання CO_2 шляхом видалення на внутрішній поверхні мембрани. Через широкий спектр умов існування ціанобактерії можуть активно поглинати як CO_2 , так і HCO_3^- для використання у фотосинтезі. У ціанобактеріях було ідентифіковано п'ять систем поглинання C_n , три з яких пов'язані з активним транспортом HCO_3^- крізь плазматичну мембрану (один АТФ-залежний та два Na^+ -залежні HCO_3^- -транспортери), і дві – засновані на пасивному надходженні CO_2 за градієнтом концентрації та його повторному захопленні в клітині (Price та ін., 2008). Останні залежать від пасивної дифузії CO_2 з наступною гідратацією в лужних доменах тилакоїдної мембрани (Tchernov et al., 2001). Насправді, ці механізми перехоплюють CO_2 , що надходить не тільки ззовні, але й утворюється всередині клітини під час дихання. CO_2 добре розчинний у біомембранах, тому легко надходить у клітину шляхом дифузії. Потім він перетворюється на HCO_3^- , у 1000 разів менш розчинний

у ліпідах, з участю КА-подібних доменів комплексу NDH-1 на тилакоїдних та цитоплазматичних мембранах, завдяки чому затримується у клітині. Комплекси NDH-1 ціанобактерій та хлоропластів, ймовірно, належать до окремого підкласу родини ферментів Комплексу 1. Ціанобактерії містять кілька ізоформ комплексу NDH-1, які беруть участь у різних процесах: диханні, циклічному та нециклічному фотофосфорилуванні (Battchikova, 2011). Їхня локалізація добре узгоджується з функціями: NDH-1₄ конститутивно присутній переважно на мембрані тилакоїдів, рідше – на цитоплазматичній мембрані (Xu et al., 2008) і має низьку спорідненість до CO₂, а NDH-1₃ індукується низьким вмістом C_n, локалізований на тилакоїдній мембрані і має високу спорідненість до CO₂. КА-подібні домени цих комплексів ChpX (CupB, що входить до складу NDH-1₄) та ChpY (CupA, частина NDH-1₃), а також зв'язана з ними βКА EcaB (Sun et al., 2019), розташовані в кишнях, які зазнають локального підлучення внаслідок векторного перенесення електронів та протонів, що сприяє перетворенню CO₂ на HCO₃⁻ та забезпечує виконання Ролі 2 (Maeda et al., 2002; Han et al., 2017).

Експресія CupA та EcaB стимулюється низьким рівнем C_n, високим рН та високою інтенсивністю освітлення (Sun et al., 2019). Як правило, КА каталізують рН-залежне врівноваження CO₂/HCO₃⁻, однак у цих системах КА активність спрямовано використовується для накопичення HCO₃⁻ та підтримання його нерівноважної концентрації відносно до CO₂. Функція CupB пов'язана з циклічним транспортуванням електронів навколо фотосистеми 1, а CupA – з лінійним транспортуванням електронів (від H₂O до NADP⁺) (Maeda et al., 2002). Точний механізм участі КА у поглинанні C_n ще досліджується, але припускають, що вони чітко скоординовані з транспортом протонів (Tchernov et al., 2001; Hagemann, Kaplan, 2020; Schuller et al., 2020). Білки CupA і CupB мають вирішальне значення для виживання ціанобактерій за рН нижче 7,0 (Han et al., 2017), коли концентрація HCO₃⁻ у рідкому середовищі дуже низька і фотосинтез відбувається в основному за рахунок поглинання CO₂. Білки CupA і CupB не тільки виконують функцію КА, допомагаючи концентрувати C_n у клітині, але й координують процеси гідратації CO₂ та транспортування електронів у ціанобактеріях, тобто за відсутності цих білків або низької концентрації CO₂ інгібується транспортування протонів крізь тилакоїдну мембрану, що зумовлює розвиток фотоінгібування (Han et al., 2017).

Структурна та функціональна роль в карбоксисомах. КА є конститутивними структурними елементами карбоксисом, де вони, ймовірно, відіграють Роль 3, забезпечуючи постачання CO₂ до Рубіско. В α-карбоксисомах функцію КА виконує білок CsoS3 (55–65 кДа, CsoSCA, Kimber, 2014), який за кристалічною будовою подібний до βКА, хоча за амінокислотою послідовністю має настільки низький ступінь гомології,

що спочатку був віднесений до нового класу – ϵ КА (Sawaya et al., 2006; Kimber, 2014). У β -карбоксисомах N-кінцевий домен білка CcmM (55–70 кДа) є функціональним гомологом γ КА з археобактерій (Peña et al., 2010), а C-кінцевий домен містить малу субодиницю Рубіско, що свідчить про поєднання функціональних (КА) та структурних (частина Рубіско) ролей. Це припущення також підкріплюється тим, що у багатьох ціанобактерій білок CcmM є єдиним кандидатом на роль КА у кластері карбоксисомних генів (Cannon et al., 2010). У деяких ціанобактеріях β -карбоксисоми містять β КА CsaA (Yu et al., 1992; Kerfeld, Melnicki, 2016). Як CcmM, так і CsaA мають унікальні структурні особливості та підтверджену КА активність, що є важливою передумовою для функціонування МКК (Kimber, 2014). Для виконання функції і запобігання короткому замиканню МКК активність цих КА має суворо контролюватися під час їх збирання, оскільки потрібна лише у карбоксисомі і не бажана у цитоплазмі. Їхня активація в карбоксисомі може контролюватися окисно-відновним потенціалом, рН або білок-білковою взаємодією за участю унікальних для КА доменів.

Мікродорості

Chlamydomonas reinhardtii

У багатьох дослідженнях було показано, що активність КА та експресія α КА САН1, β КА1, β КА2 і мітохондріальної КА індукуються дефіцитом C_n (Polishchuk, 2021). Хоча в основному активність КА у вирощених в атмосфері повітря клітинах *C. reinhardtii* забезпечується САН1, було показано, що для МКК важливі різні КА, поза- і внутрішньоклітинні (Moroney et al., 1985). α КА САН1 була виявлена у периплазматичному просторі, β КА САН8 – у плазматичній мембрані, α КА САН3 – у тилакоїдах, θ КА LCIB та LCIC – у стромі хлоропластів та β КА САН6 – у джгутиках (рис. 2).

Позаклітинні/периплазматичні КА та поглинання CO_2 . Серед позаклітинних КА найбільш доведеною є участь у МКК САН1, оскільки стимуляція КА-активності у культурі *C. reinhardtii* за умов дефіциту CO_2 в основному зумовлена індукцією цієї КА. Експерименти з використанням гідрофільного інгібітора КА ацетазоламіду та аналізу експресії САН1 показали сильну кореляцію експресії та активності САН1 з фотосинтетичною фіксацією CO_2 в умовах дефіциту C_n . САН8 у плазматичній мембрані може брати участь у МКК у кооперації з САН1 та частково дублюючи її функцію (Ynalvez et al., 2008). Інша позаклітинна КА, САН6, розташована у джгутиках, може відігравати особливу роль в отриманні C_n клітинами, будучи залученою у сприйнятті концентрації C_n та хемотаксисі (Mackinder et al., 2017).

КА в структурі та функції піреноїду. Було встановлено, що САНЗ допомагає Рубіско, забезпечуючи постачання CO_2 у піреноїд зі стромального пулу HCO_3^- , граючи Роль 3 у МКК (Moroney, Ynalvez, 2007). Після САН1 САНЗ є другою за ступенем вивченості КА у *C. reinhardtii* і, ймовірно, у водоростей. При достатній кількості CO_2 вона має низьку активність і зв'язана з донорним боком фотосистеми II у всьому об'ємі хлоропласту. Однак за низького вмісту CO_2 вона фосфорилується, значно

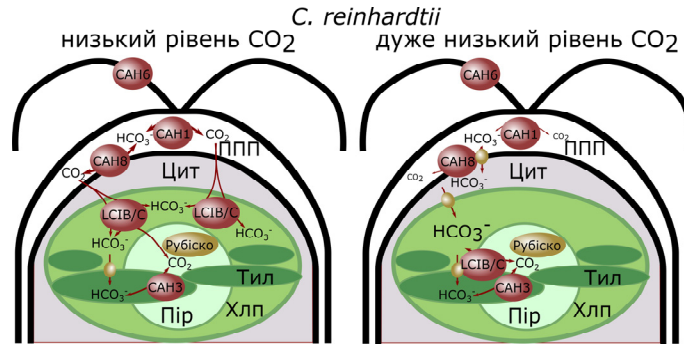


Рис. 2. Схематичне зображення участі карбоангідраз у двох режимах роботи механізму концентрування карбону у *Chlamydomonas reinhardtii*. На цьому і наступних рисунках: Пір – піреноїд, Хлп – хлоропласт

активується та зосереджується в піреноїді для участі в МКК (Blanco-Rivero et al., 2012). Важливість θKA LCIB та LCIC для МКК підтверджена великою кількістю доказів (Mackinder, 2018), хоча їх активність не було виявлено у *C. reinhardtii* (Jin et al., 2016). Ймовірно, що МКК у *C. reinhardtii* функціонує у двох режимах, активованих за різних рівнів C_n . При дуже низькій зовнішній концентрації CO_2 ($< 0,03\%$) активується режим, який передбачає активне поглинання HCO_3^- як через плазматичну мембрану, так і через оболонку хлоропласта. За цих умов LCIB локалізується на периферії піреноїду і відіграє незначну роль, запобігаючи витоку CO_2 (Wang, Spalding, 2014). При низькій зовнішній концентрації CO_2 (0,03–0,5%) LCIB розосереджується по стромі і полегшує дифузію CO_2 та pH-залежне накопичення HCO_3^- на світлі (Yamano et al., 2010; Wang, Spalding, 2014). Такі переміщення та зміни активності LCIB та САНЗ можуть бути потрібні для швидкої адаптації до коливань освітленості або доступності C_n , оскільки не потребують енергетично затратного і тривалого синтезу та деградації білків.

Діатомові водорості

Через вторинне ендосимбіотичне походження діатомові водорості мають найскладнішу систему клітинних компартментів. МКК залучають

декілька компартментів, в яких КА відіграють різну роль. Тому найбільш складні та різноманітні МКК зустрічаються у діатомових водоростей. Наприклад, два модельні види, *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin і *Thalassiosira pseudonana* Cleve, значно відрізняються за участю КА у МКК (рис. 3).

Phaeodactylum tricornutum. МКК у *P. tricornutum* характеризується відсутністю позаклітинних КА, що не характерно для діатомових водоростей (Martin, Tortell, 2008). У цитоплазмі також не виявлено КА.

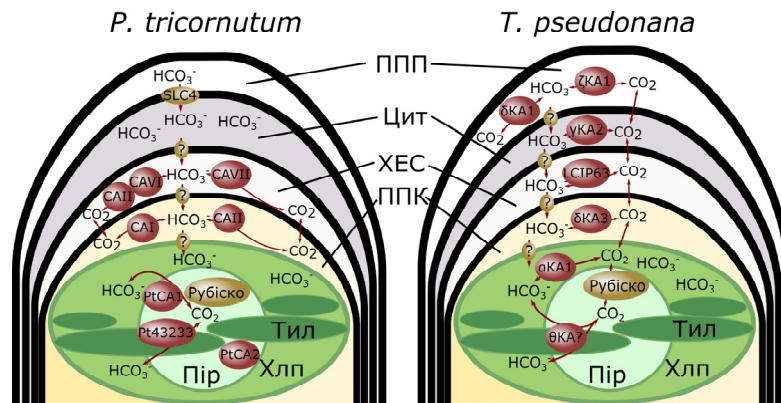


Рис. 3. Схематичне зображення участі карбоангідраз у механізмах концентрування карбону у *Phaeodactylum tricornutum* і *Thalassiosira pseudonana*. На цьому і наступних рисунках: ХЕС – хлоропластна ендоплазматична сітка, ППК – перипластидний компартмент

Натомість КА локалізуються в хлоропластній ендоплазматичній сітці (α КА CAII, CAVI та CAVII) та перипластидному просторі (α КА CAI та CAII), що походять від периплазматичного простору і цитоплазматичної мембрани, та цитоплазми еукаріотичного ендосимбіонту відповідно. Ці КА по обидві сторони перипластидної мембрани, ймовірно, полегшують активне поглинання HCO_3^- , відіграючи тим самим модифіковані Ролі 1 і 2, за аналогією з позаклітинними та цитоплазматичними КА *C. reinhardtii*. Можна припустити, що C_n надходить у цитоплазму за допомогою активного транспорту. У хлоропласті КА розташовані у піреноїді (β КА PtCA1, PtCA2 і θ КА Pt43233) і відсутні у стромі (Hopkinson et al., 2016), що відповідає умовам ефективного функціонування МКК. Було доведено, що Pt43233 відіграє Роль 3 у піреноїді, оскільки в нокаутних мутантів порівняно з диким типом спорідненість фотосинтезу до C_n різко знижувалась, а ріст сповільнювався (Kikutani et al., 2016). PtCA1 та PtCA2 також можуть грати Роль 3, але це ще не доведено (Hopkinson et al., 2016). Цікаво, що PtCA1 та PtCA2 активуються відновленими тіоредоксинами, що свідчить про можливість окисно-відновної регуляції МКК світлом.

Thalassiosira pseudonana Hasle & Heimdal. На відміну від *P. tricornutum*, у МКК *T. pseudonana*, ймовірно, задіяні периплазматичні та цитоплазматичні КА (δ КА1+ ζ КА1 та γ КА2 відповідно), експресія яких стимулюється низьким вмістом CO_2 (Samukawa et al., 2014). Ще одна КА, індукована низьким вмістом CO_2 – δ КА3, розташована у перипластидному просторі. Докази чутливості стромальної α КА1 до рівня CO_2 суперечливі (Tachibana et al., 2011; Samukawa et al., 2014). Нещодавно Jensen зі співавт. (2019) показали, що білок LCIP63 – це Mn^{2+} -вмісна КА, що належить до нової родини іКА, розташована в хлоропластній ендоплазматичній сітці *T. pseudonana* та індукується за низького вмісту CO_2 . Надекспресія LCIP63 збільшувала спорідненість фотосинтезу до C_n . Загалом ці дані свідчать про те, що білок LCIP63 важливий для МКК. Оскільки хлоропластна ендоплазматична сітка є колишнім периплазматичним простором еукаріотичного ендосимбіонту, ми припускаємо, що LCIP63 відіграє Роль 1. δ КА1 та ζ КА1 також можуть грати Роль 1, полегшуючи трансмембранне поглинання HCO_3^- , а γ КА2, ймовірно, полегшує дифузію CO_2 у цитоплазмі. Функція α КА1 залишається нез'ясованою. Вона сильно експресується і чітко асоційована з областю хлоропластів, що свідчить про роль у фотосинтезі, а отже в МКК. За допомогою аналізу сигнальних пептидів було передбачено локалізацію цієї КА в перипластидному просторі (Tachibana et al., 2011).

Однак спираючись на дані конфокальної мікроскопії, автори припустили, що α КА1 рівномірно розсіяна по стромі (Tachibana et al., 2011), що є суперечливим, оскільки може призводити до короткого замикання МКК. Samukawa зі співавт. (2014) припустили, що у *T. pseudonana* ця КА перехоплює CO_2 , що витікає зі строми. У такому випадку її локалізація має бути обмежена периферією хлоропласту або перипластидним компартментом. Ми вважаємо, що дані конфокальної мікроскопії Tachibana зі співавт. (2011) не виключають такої можливості. Наразі у *T. pseudonana* не було охарактеризовано жодної тилакоїдно-люмінальної КА, але можна припустити, що θ КА, подібна до Pt43233 у *P. tricornutum*, може бути експресована і грати Роль 3 у піреноїді *T. pseudonana* (Kikutani et al., 2016).

Макрофіти

Наявних у науковій літературі даних щодо МКК у водних судинних рослин небагато. На підставі фізіологічних експериментів було висунуто припущення, що позаклітинна КА-активність необхідна для поглинання C_n багатьма морськими травами (Poschenrieder et al., 2018) та прісноводною покритонасінною рослиною *Ottelia alismoides* (Huang et al., 2020), оскільки гідрофільний інгібітор КА ацетазоламід знижував спорідненість фотосинтезу до C_n у цих видів. У *O. alismoides* передбачувана периплазматична α КА1, ймовірно, грає Роль 1, забезпечуючи швидке попов-

нення CO_2 на поверхні плазматичної мембрани шляхом дегідратації HCO_3^- . Крім того, було показано, що відповідна зворотна реакція потрібна для поглинання HCO_3^- аніонообмінним транспортером SLC4, зв'язаним з плазматичною мембраною. Незважаючи на постійний високий рівень конститутивної експресії, активність цієї КА стимулювалася за низького вмісту CO_2 (Huang et al., 2020).

Висновки

Завдяки здатності каталізувати взаємоперетворення CO_2 та HCO_3^- , КА диверсифікують шляхи та знижують дифузійні бар'єри для неорганічного транспорту карбону від зовнішнього середовища до місця фіксації CO_2 Рубіско, тим самим збільшуючи спорідненість фотосинтезу до C_n . Кількість та внесок різних форм C_n істотно змінюються залежно від pH водного середовища, але КА ефективно стабілізують надходження C_n до поверхні клітини. Основним обґрунтуванням ролі КА є те, що оскільки HCO_3^- нерозчинний у біомембранах, його слід перетворити на CO_2 для пасивного надходження у клітину або її компартменти. Разом з тим, з'являється все більше доказів, які свідчать про участь КА у метаболонах транспорту C_n , а також метаболоні фіксації CO_2 , які є частиною МКК.

Список літератури

- Aizawa K., Miyachi S. 1986. Carbonic anhydrase and CO_2 concentrating mechanisms in microalgae and cyanobacteria. *FEMS Microbiol. Lett.* 39(3): 215–233. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1986.tb01860.x>
- Badger M. 2003. The roles of carbonic anhydrases in photosynthetic CO_2 concentrating mechanisms. *Photosynth. Res.* 77(2–3): 83–94. <https://doi.org/10.1023/A:1025821717773>
- Badger M.R., Price G.D. 1992. The CO_2 concentrating mechanism in cyanobacteria and microalgae. *Physiol. Plant.* 84(4): 606–615. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1992.tb04711.x>
- Badger M.R., Kaplan A., Berry J.A. 1978. A mechanism for concentrating CO_2 in *Chlamydomonas reinhardtii* and *Anabaena variabilis* and its role in photosynthetic CO_2 fixation. *Carnegie Inst. Yearbook.* 77: 251–261.
- Badger M.R., Andrews T.J., Whitney S.M., Ludwig M., Yellowlees D.C., Leggat W., Price G.D. 1998. The diversity and coevolution of Rubisco, plastids, pyrenoids, and chloroplast-based CO_2 -concentrating mechanisms in algae. *Can. J. Bot.* 76(6): 1052–1071. <https://doi.org/10.1139/b98-074>
- Battchikova N., Eisenhut M., Aro E.-M. 2011. Cyanobacterial NDH-1 complexes: novel insights and remaining puzzles. *Biochim. Biophys. Acta – Bioenergetics.* 1807(8): 935–944. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2010.10.017>
- Berner R.A. 2006. GEOCARBSULF: a combined model for Phanerozoic atmospheric O_2 and CO_2 . *Geochim. Cosmochim. Acta.* 70(23): 5653–5664. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2005.11.032>

- Berry J., Farquhar G. 1978. The CO₂ concentrating function of C₄ photosynthesis. A biochemical model: *Proc. 4th Int. Congr. on Photosynthesis* (Reading, England, 1977). London: Biochem. Soc. Pp. 119–131.
- Blanco-Rivero A., Shutova T., Román M.J., Villarejo A., Martinez F. 2012. Phosphorylation controls the localization and activation of the luminal carbonic anhydrase in *Chlamydomonas reinhardtii*. *PLoS ONE*. 7(11): e49063.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0049063>
- Cannon G.C., Heinhorst S., Kerfeld C.A. 2010. Carboxysomal carbonic anhydrases: structure and role in microbial CO₂ fixation. *Biochim. Biophys. Acta – Proteins and Proteomics*. 1804(2): 382–392. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2009.09.026>
- Coleman J.R. 2000. In: *Photosynthesis. Advances in Photosynthesis and Respiration*. Vol. 9. Dordrecht: Kluwer Acad. Publ. Pp. 353–367. https://doi.org/10.1007/0-306-48137-5_15
- DiMario R.J., Machingura M.C., Waldrop G.L., Moroney J.V. 2018. The many types of carbonic anhydrases in photosynthetic organisms. *Plant Sci*. 268: 11–17.
<https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2017.12.002>
- Giordano M., Beardall J., Raven J.A. 2005. CO₂ concentrating mechanisms in algae: mechanisms, environmental modulation, and evolution. *Annu. Rev. Plant Biol.* 56: 99–131.
<https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.56.032604.144052>
- Hagemann M., Kaplan A. 2020. Is the structure of the CO₂-hydrating complex I compatible with the cyanobacterial CO₂-concentrating mechanism ? *Plant Physiol*. 183(2): 460–463.
<https://doi.org/10.1104/pp.20.00220>
- Han X., Sun N., Xu M., Mi H. 2017. Co-ordination of NDH and cup proteins in CO₂ uptake in cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *J. Exp. Bot.* 68(14): 3869–3877.
<https://doi.org/10.1093/jxb/erx129>
- Hatch M.D. 1987. C₄ photosynthesis: a unique blend of modified biochemistry, anatomy and ultrastructure. *Biochim. Biophys. Acta*. 895(2): 81–106. [https://doi.org/10.1016/S0304-4173\(87\)80009-5](https://doi.org/10.1016/S0304-4173(87)80009-5)
- Hirakawa Y., Senda M., Fukuda K., Yu H.Y., Ishida M., Taira M., Kinbara K., Senda T. 2021. Characterization of a novel type of carbonic anhydrase that acts without metal cofactors. *BMC Biol*. 19: 105. doi: 10.1186/s12915-021-01039-8
- Hopkinson B.M., Dupont C.L., Matsuda Y. 2016. The physiology and genetics of CO₂ concentrating mechanisms in model diatoms. *Curr. Opin. Plant Biol.* 31: 51–57.
<https://doi.org/10.1016/j.pbi.2016.03.013>
- Huang W., Han S., Jiang H., Gu S., Li W., Gontero B., Maberly S.C. 2020. External α-carbonic anhydrase and solute carrier 4 are required for bicarbonate uptake in a freshwater angiosperm. *J. Exp. Bot.* 71(19): 6004–6014. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa351>
- Jensen E.L., Maberly S.C., Gontero B. 2020. Insights on the functions and ecophysiological relevance of the diverse carbonic anhydrases in microalgae. *Int. J. Mol. Sci.* 21(8): 2922.
<https://doi.org/10.3390/ijms21082922>
- Jensen E.L., Clement R., Kosta A., Maberly S.C., Gontero B. 2019. A new widespread subclass of carbonic anhydrase in marine phytoplankton. *ISME J.* 13(8): 2094–2106.
<https://doi.org/10.1038/s41396-019-0426-8>

- Jin S., Sun J., Wunder T., Tang D., Cousins A.B., Sze S.K., Mueller-Cajar O., Gao Y.-G. 2016. Structural insights into the LCIB protein family reveals a new group of β -carbonic anhydrases. *Proc. Nat Acad. Sci.* 113(51): 14716–14721. <https://doi.org/10.1073/pnas.1616294113>.
- Kaplan A., Reinhold L. 1999. CO₂ concentrating mechanisms in photosynthetic microorganisms. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 50(1): 539–570. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.50.1.539>
- Kenrick P., Crane P.R. 1997. The origin and early evolution of plants on land. *Nature*. 389(6646): 33–39. <https://doi.org/10.1038/37918>
- Kerfeld C.A., Melnicki M.R. 2016. Assembly, function and evolution of cyanobacterial carboxysomes. *Curr. Opin. Plant Biol.* 31: 66–75. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2016.03.009>
- Kikutani S., Nakajima K., Nagasato C., Tsuji Y., Miyatake A., Matsuda Y. 2016. Thylakoid luminal θ -carbonic anhydrase critical for growth and photosynthesis in the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 113(35): 9828–9833. <https://doi.org/10.1073/pnas.1603112113>
- Kimber M.S. 2014. In: *Carbonic Anhydrase: Mechanism, Regulation, Links to Disease, and Industrial Applications*. Dordrecht: Springer Netherlands. Pp. 89–103. https://doi.org/10.1007/978-94-007-7359-2_6
- Kupriyanova E., Villarejo A., Markelova A., Gerasimenko L., Zavarzin G., Samuelsson G., Los D.A., Pronina N. 2007. Extracellular carbonic anhydrases of the stromatolite-forming cyanobacterium *Microcoleus chthonoplastes*. *Microbiology*. 153(4): 1149–1156. <https://doi.org/10.1099/mic.0.2006/003905-0>
- Kupriyanova E.V., Sinetova M.A., Markelova A.G., Allakhverdiev S.I., Los D.A., Pronina N.A. 2011. Extracellular β -class carbonic anhydrase of the alkaliphilic cyanobacterium *Microcoleus chthonoplastes*. *J. Photochem. Photobiol. B: Biology*. 103(1): 78–86. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2011.01.021>
- Kupriyanova E.V., Sinetova M.A., Mironov K.S., Novikova G.V., Dykman L.A., Rodionova M.V., Gabrielyan D.A., Los D.A. 2019. Highly active extracellular α -class carbonic anhydrase of *Cyanothece* sp. ATCC 51142. *Biochimie*. 160: 200–209. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2019.03.009>
- Li T., Sharp C.E., Ataeian M., Strous M., de Beer D. 2018. Role of extracellular carbonic anhydrase in dissolved inorganic carbon uptake in alkaliphilic phototrophic biofilm. *Front. Microbiol.* 9: 2490. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02490>
- Mackinder L.C.M. 2018. The *Chlamydomonas* CO₂-concentrating mechanism and its potential for engineering photosynthesis in plants. *New Phytologist*. 217(1): 54–61. <https://doi.org/10.1111/nph.14749>
- Mackinder L.C.M., Chen C., Leib R.D., Patena W., Blum S.R., Rodman M., Ramundo S., Adams C.M., Jonikas M.C. 2017. A spatial interactome reveals the protein organization of the algal CO₂-concentrating mechanism. *Cell*. 171(1): 133–147.e14. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.08.044>
- Maeda S., Badger M.R., Price G.D. 2002. Novel gene products associated with NdhD3/D4-containing NDH-1 complexes are involved in photosynthetic CO₂ hydration in the

- cyanobacterium, *Synechococcus* sp. PCC7942: mechanism of CO₂ uptake in cyanobacteria. *Mol. Microbiol.* 43(2): 425–435. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2002.02753.x>
- Martin C.L., Tortell P.D. 2008. Bicarbonate transport and extracellular carbonic anhydrase in marine diatoms. *Physiol. Plant.* 133(1): 106–116. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2008.01054.x>
- Medina-Puche L., Castelló M.J., Canet J.V., Lamilla J., Colombo M.L., Tornero P. 2017. β -carbonic anhydrases play a role in salicylic acid perception in *Arabidopsis*. *PLoS ONE*. 12(7): e0181820. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181820>
- Morel F.M.M., Lam P.J., Saito M.A. 2020. Trace metal substitution in marine phytoplankton. *Annu. Rev. Earth Planet. Sci.* 48: 491–517. <https://doi.org/10.1146/annurev-earth-053018-060108>
- Moroney J.V., Ynalvez R.A. 2007. Proposed carbon dioxide concentrating mechanism in *Chlamydomonas Reinhardtii*. *Eukaryot. Cell.* 6(8): 1251–1259. <https://doi.org/10.1128/EC.00064-07>
- Moroney J.V., Husic H.D., Tolbert N.E. 1985. Effect of carbonic anhydrase inhibitors on inorganic carbon accumulation by *Chlamydomonas Reinhardtii*. *Plant Physiol.* 79(1): 177–183. <https://doi.org/10.1104/pp.79.1.177>
- Peña K.L., Castel S.E., de Araujo C., Espie G.S., Kimber M.S. 2010. Structural basis of the oxidative activation of the carboxysomal γ -carbonic anhydrase, CcmM. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 107(6): 2455–2460. <https://doi.org/10.1073/pnas.0910866107>
- Polishchuk O.V. 2021. Stress-related changes in the expression and activity of plant carbonic anhydrases. *Planta.* 253(2): 58. <https://doi.org/10.1007/s00425-020-03553-5>
- Poschenrieder C., Fernández J.A., Rubio L., Pérez L., Terés J., Barceló J. 2018. Transport and use of bicarbonate in plants: current knowledge and challenges ahead. *Int. J. Mol. Sci.* 19(5): 1352. <https://doi.org/10.3390/ijms19051352>
- Price G.D., Badger M.R., Woodger F.J., Long B.M. 2008. Advances in understanding the cyanobacterial CO₂-concentrating-mechanism (CCM): functional components, C_i transporters, diversity, genetic regulation and prospects for engineering into plants. *J. Exp. Bot.* 59(7): 1441–1461. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm112>
- Samukawa M., Shen C., Hopkinson B.M., Matsuda Y. 2014. Localization of putative carbonic anhydrases in the marine diatom, *Thalassiosira pseudonana*. *Photosynth. Res.* 121(2–3): 235–249. <https://doi.org/10.1007/s11120-014-9967-x>
- Sawaya M.R., Cannon G.C., Heinhorst S., Tanaka S., Williams E.B., Yeates T.O., Kerfeld C.A. 2006. The structure of β -carbonic anhydrase from the carboxysomal shell reveals a distinct subclass with one active site for the price of two. *J. Biol. Chem.* 281(11): 7546–7555. <https://doi.org/10.1074/jbc.M510464200>
- Schuller J.M., Saura P., Thiemann J., Schuller S.K., Gamiz-Hernandez A.P., Kurisu G., Nowaczyk M.M., Kaila V.R.I. 2020. Redox-coupled proton pumping drives carbon concentration in the photosynthetic complex I. *Nat. Commun.* 11(1): 494. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-14347-4>
- Sun N., Han X., Xu M., Kaplan A., Espie G.S., Mi H. 2019. A thylakoid – located carbonic anhydrase regulates CO₂ uptake in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *New Phytol.* 222(1): 206–217. <https://doi.org/10.1111/nph.15575>

- Tachibana M., Allen A.E., Kikutani S., Endo Y., Bowler C., Matsuda Y. 2011. Localization of putative carbonic anhydrases in two marine diatoms, *Phaeodactylum tricornutum* and *Thalassiosira pseudonana*. *Photosynth. Res.* 109(1–3): 205–221. <https://doi.org/10.1007/s11120-011-9634-4>
- Tchernov D., Helman Y., Keren N., Luz B., Ohad I., Reinhold L., Ogawa T., Kaplan A. 2001. Passive entry of CO₂ and its energy-dependent intracellular conversion to HCO₃[–] in cyanobacteria are driven by a Photosystem I-generated ΔμH⁺. *J. Biol. Chem.* 276(26): 23450–23455. <https://doi.org/10.1074/jbc.M101973200>
- Tholen D., Zhu X.-G. 2011. The mechanistic basis of internal conductance: a theoretical analysis of mesophyll cell photosynthesis and CO₂ diffusion. *Plant Physiol.* 156(1): 90–105. <https://doi.org/10.1104/pp.111.172346>
- Vats S.K., Kumar S., Ahuja P.S. 2011. CO₂ sequestration in plants: lesson from divergent strategies. *Photosynthetica.* 49(4): 481–496. <https://doi.org/10.1007/s11099-011-0078-z>
- von Caemmerer S., Quinn V., Hancock N.C., Price G.D., Furbank R.T., Ludwig M. 2004. Carbonic anhydrase and C₄ photosynthesis: a transgenic analysis. *Plant, Cell Environ.* 27(6): 697–703. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2003.01157.x>
- Wang Y., Spalding M.H. 2014. Acclimation to very low CO₂: contribution of limiting CO₂ inducible proteins, LCIB and LCIA, to inorganic carbon uptake in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiol.* 166(4): 2040–2050. <https://doi.org/10.1104/pp.114.248294>
- Xu M., Ogawa T., Pakrasi H.B., Mi H. 2008. Identification and localization of the CupB protein involved in constitutive CO₂ uptake in the cyanobacterium, *Synechocystis* sp. strain PCC 6803. *Plant Cell Physiol.* 49(6): 994–997. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcn074>
- Yamano T., Tsujikawa T., Hatano K., Ozawa S., Takahashi Y., Fukuzawa H. 2010. Light and low-CO₂-dependent LCIB–LCIC complex localization in the chloroplast supports the carbon-concentrating mechanism in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Cell Physiol.* 51(9): 1453–1468. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcq105>
- Ynalvez R.A., Xiao Y., Ward A.S., Cunnusamy K., Moroney J.V. 2008. Identification and characterization of two closely related β-carbonic anhydrases from *Chlamydomonas reinhardtii*. *Physiol. Plant.* 133(1): 15–26. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2007.01043.x>
- Yu J.-W., Price G.D., Song L., Badger M.R. 1992. Isolation of a putative carboxysomal carbonic anhydrase gene from the cyanobacterium *Synechococcus* PCC7942. *Plant Physiol.* 100(2): 794–800. <https://doi.org/10.1104/pp.100.2.794>
- Zabaleta E., Martin M.V., Braun H.-P. 2012. A basal carbon concentrating mechanism in plants? *Plant Sci.* 187: 97–104. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2012.02.001>

Підписала до друку О.К. Золотарьова

Polishchuk O.V. 2021. **The roles of carbonic anhydrases in carbon concentrating mechanisms of aquatic photoautotrophs.** *Algologia.* 31(4): 337–352

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

The article surveys multiple roles of carbonic anhydrases (CAs) in inorganic carbon (C_i) acquisition by cyanobacteria, microalgae, and macrophytes under C_i limiting conditions. Slow C_i diffusion in aquatic environments imposes the need for carbon concentrating mechanisms (also named CO_2 concentrating mechanisms, CCMs) in aquatic photoautotrophs to transport C_i against the gradient and ensure CO_2 supply to photosynthesis. There are common requirements for efficient CCM functioning in cyanobacteria, algae, and aquatic angiosperms, including active transport of HCO_3^- to the C_i -concentrating compartment and CO_2 generation from the HCO_3^- pool in the Rubisco-enriched subcompartment. Facilitating C_i diffusion in aqueous solutions and across lipid bilayers, CAs play essential roles in CCMs that are best studied in cyanobacteria, green algae, and diatoms. Roles of CAs in CCMs depend on their localization and include facilitation of active transmembrane C_i uptake by its supplying at the outer surface (Role 1) and removal at the inner surface (Role 2), as well as the acceleration of CO_2 production from HCO_3^- near Rubisco (Role 3) in a special CO_2 -tight compartment, carboxysome in cyanobacteria or pyrenoid in microalgae. The compartmentalization of CAs is also critical because, if activated in the HCO_3^- -concentrating compartment, they can easily eliminate the C_i gradient created by CCMs.

Key words: microalgae, cyanobacteria, macrophytes, photosynthesis, pyrenoid, carboxysome, inorganic carbon, carbon concentrating mechanisms, carbonic anhydrase

Порівняльний аналіз методів оцінки збереженості культур мікроводоростей *Dunaliella salina* Teodoresco та *Chlorococcum dissectum* Korshikov (*Chlorophyta*) після впливу стрес-факторів

Чернобай Н.А., Возовик К.Д., Каднікова Н.Г.

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України,
вул. Переяславська, 23, Харків 61016, Україна
nadiiachernobai@gmail.com

Надійшла до редакції 22.08.2021. Після доопрацювання 28.09. 2021. Підписана до друку 25.10.2021.
Опублікована 22.12.2021

Реферат. Досліджена та проаналізована можливість використання різноманітних методів визначення життєздатності культур мікроводоростей *Dunaliella salina* та *Chlorococcum dissectum* до та після впливу пошкоджуючих факторів. Встановлено, що підбір оптимального методу повинен здійснюватися для кожної культури індивідуально. Для інтегральної оцінки проліферативної та метаболічної активності клітин мікроводоростей може використовуватися Alamar Blue-тест та здатність до зростання на рідких поживних середовищах. Використання чашкового методу Коха, 3-(4,5-диметилтіазол-2-іл)-2,5-дифеніл-тетразоліум бромід (MTT-тест) і трифеніл-2,3,5-тетразолій хлорид (TTX) можливе лише для мікроводорості *C. dissectum*. Вітальне забарвлення трипановим синім виявилось некоректним для обох культур.

Ключові слова: життєздатність, мікроводорості, *Chlorococcum dissectum*, *Dunaliella salina*, Alamar Blue, MTT-тест, TTX, трипановий синій

Вступ

Основними показниками, які визначають життєздатність будь якої клітини, є здатність до відтворення, дихання тощо, але специфічність протікання цих процесів залежить від певного типу клітин. Мікроводорості завдяки своїй здатності до існування у різноманітних умовах набули широкого спектру адаптаційних механізмів і унікальних біологічних властивостей, що дозволяє їх використання в якості модельних об'єктів у наукових дослідженнях та багатьох галузях біотехнології (Yuana et al., 2002; Chowdhury et al., 2016; Borovkov et al., 2019). Широке наукове та практичне використання мікроводоростей, зокрема *Dunaliella salina* Teodoresco, 1905 та *Chlorococcum dissectum* Korshikov, 1953, потребує підбору ефективних методів інтегральної оцінки їхньої збереженості.

© Чернобай Н.А., Возовик К.Д., Каднікова Н.Г., 2021

Поширеними методами для визначення життєздатності рослинних клітин після впливу пошкоджуючих чинників є вітальне забарвлення трипановим синім та оцінка приросту біомаси впродовж культивування шляхом кількісного підрахунку концентрації клітин (кл/мл) у камері Горяєва (Fernández et al., 2018). Однак забарвлення трипановим синім вказує лише на стан плазматичної мембрани, тому результати використання методики не обов'язково співпадають з показниками життєздатності. Оцінка життєздатності клітин за приростом біомаси не дозволяє отримати комплексну характеристику їхнього стану після впливу стресових факторів.

Життєздатність та рівень збереженості клітин, схильних до колонієутворення, можна оцінити за здатністю культури до росту на агаризованому середовищі (чашковий метод Коха) (Shimomura et al., 2006).

Метаболічну активність клітин досліджують за інтенсивністю окремих фізіологічних процесів. Одним із можливих способів є оцінка ферментів дегідрогеназ за допомогою тетразолієвих барвників (Stockert et al., 2018). Низький окислювально-відновлювальний потенціал цих сполук забезпечує перехоплення ними іонів H^+ , які переносяться нікотинамідаденіндинуклеотидом у процесі клітинного дихання. Це сприяє відновленню тетразолієвих солей та їхнього переходу до водонерозчинної форми – формазану. Реакція відбувається у цитоплазмі за рахунок діяльності цитоплазматичних дегідрогеназ та в мітохондріях (Ryzhik, 2013). Інтенсивність накопичення формазану дозволяє оцінити метаболічну активність клітин (МТТ- або ТТХ-тест). Наразі вони широко використовуються для визначення фізіологічного стану як тваринних, так і рослинних клітин (Petrenko et al., 2005; Ryzhik, 2013; Anikina et al., 2014; Bonnier et al., 2015). Також відомі дослідження, зроблені на макроводоростях з тонкопластинчатою будовою (Lu et al., 2006). Однак на мікроводоростях цей метод не використовувався.

Як додатковий спосіб оцінки метаболічної активності клітин, індикатора їхньої життєздатності та проліферації широко використовується Alamar Blue-тест (АВ-тест). Суть його полягає у накопиченні відновленої форми індикатору, кількість якого пропорційна активності окислювально-відновлювальних ферментів, які збільшуються у ході проліферації (Ahmed et al., 1994; Petrenko et al., 2005).

У літературі досить мало відомостей про використання зазначених методів оцінки збереженості рослинних клітин (Byth et al., 2001; Lu et al., 2006; Schrader, 2006; Zidarova, Pouneva, 2006), в основному дослідження проводилися на тваринах (Petrenko et al., 2005; Bonnier et al., 2015; Manlong et al., 2015).

Мета роботи – перевірка ефективності та підбір оптимального методу оцінки збереженості та метаболічної активності клітин мікроводоростей *Dunaliella salina* та *Chlorococcum dissectum*.

Матеріали та методи

Культури мікроводоростей *C. dissectum* та *D. salina* були отримані з колекції кафедри ботаніки Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна.

Умови культивування мікроводоростей

Культивування суспензійних культур об'ємом 15 мл здійснювалося до початку стаціонарної фази росту в колбах Ерленмейера об'ємом 50 або 100 мл (*C. dissectum*) та в культуральних флаконах (TPP, Switzerland) об'ємом 40 мл (*D. salina*) за температури 25 ± 2 °C і цілодобовому освітленні білим флуоресцентним світлом 52,84 мкмоль фотонів $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (3 klx) без аерації (Tafreshi, Shariati, 2009; Aravantinou, Manariotis, 2016).

Chlorococcum dissectum вирощували на рідкому поживному середовищі BG-11 (Al-Rikabey, Al-Mayah, 2018). Для культивування *D. salina* використовували середовище Ramaraj з 4 М концентрацією хлориду натрію (Ramaraj, Niran, 2013). Контроль накопичення біомаси мікроводоростей здійснювали шляхом підрахунку кількості клітин у камері Горяєва.

Оцінка збереженості та життєздатності клітин

Життєздатність клітин *C. dissectum* визначали за кількістю колонієутворюючих одиниць (КУО) протягом 10 днів при температурі 25 °C і цілодобовому освітленні на агаризованому середовищі BG-11 (Handbook..., 1995). Збереженість клітин *D. salina* оцінювали, виходячи з морфологічних властивостей: цілісності клітин, структури хлоропласту, рухливості, наявності або втраті джгутиків. Додатково здійснювали культивування зразків *D. salina* на рідкому поживному середовищі.

AB- та MTT-тесту

Для проведення MTT- та AB-тесту використовували культури в таких концентраціях: *D. salina* (153×10^6 кл/мл; 102×10^6 кл/мл; $76,5 \times 10^6$ кл/мл; 51×10^6 кл/мл); *C. dissectum* (118×10^6 кл/мл, $84,6 \times 10^6$ кл/мл, $45,8 \times 10^6$ кл/мл, 19×10^6 кл/мл, $10,8 \times 10^6$ кл/мл).

Культури об'ємом 200 мкл поміщали у стерильні 96-лункові планшети (НИИмедполимер, Росія). До кожної проби додавали по 20 мкл 3-(4,5-диметилтіазол-2-іл)-2,5-дифеніл-тетразоліум броміду (MTT) або 20 мкл резазурину (AB). Зразки інкубували протягом 4 год (MTT-тест) і 20 год (AB-тест) у термостаті без доступу світла за температури 28 °C. Після інкубації в культурах з додаванням MTT відбирали надосад (по 200 мкл) і додавали по 100 мкл 100% ДМСО для екстракції утвореного формагану (Rampersad, 2012; Prilepskiy, 2019). Оптичну щільність усіх зразків вимірювали за допомогою планшетного спектрофотометра Tecan GENios (Tecan Inc, Австралія) на довжині хвилі 550 нм. Отримані дані обробляли за допомогою програми XFLUOR4 v.4.50.

Забарвлення ТТХ

До 0,5 мл культури клітин додавали 0,1 мл 0,02% розчину ТТХ (кінцева концентрація ТТХ у розчині 0,075%). Зразок поміщали в термостат за температури 22 °С та відсутності світла на 16 год для утворення кристалів формагану. По закінченні вказаного часу наявність рожевих кристалів оцінювали за допомогою світлового мікроскопа «Ломо Микмед-2». Присутність забарвлення вказувала на життєздатність клітин (Del Egidio et al., 2017).

Забарвлення трипановим синім

До 1 мл суспензії клітин додавали 0,1 мл 0,4% розчину трипанового синього (розчин барвника попередньо готували на відповідних рідких живильних середовищах). Інкубували протягом 10 хв в умовах прямого освітлення. Кількість забарвлених клітин підраховували під світловим мікроскопом Ломо Микмед-2 (Prilepskyi et al., 2019).

Отримання інактивованих клітин

Інактивовані (нежиттєздатні) клітини культур мікроводоростей отримували шляхом циклічних змін температури у діапазоні від 25 ± 2 °С до -196 °С (занурювання зразків у рідкий азот з подальшим відігріванням при 30 °С). Загибель клітин обох культур мікроводоростей відбувалася після 5-разової зміни температури.

Статистичну обробку здійснювали з використанням програми PAST 3 та U-критерію Манна-Уїтні.

Результати та обговорення

Нами було проведено оцінку різних методів визначення життєздатності клітин мікроводоростей *C. dissectum* та *D. salina*.

Культивування на рідких поживних середовищах та чашковий метод Коха

Культивування *C. dissectum* та *D. salina* показало, що мікроводорості здатні до успішного росту при культивуванні на рідких поживних середовищах (рис. 1).

Завдяки здатності мікроводорості *C. dissectum* до колонієутворення на щільних поживних середовищах та для оцінки збереженості культури можна застосовувати культивування не тільки на рідкому, а й на агаризованому середовищі (див. таблицю).

Наведені способи можна з успіхом використовувати в біотехнологічних дослідженнях для визначення здатності клітин до росту й оцінки їхньої життєздатності після кріоконсервування та впливу інших пошкоджуючих факторів.

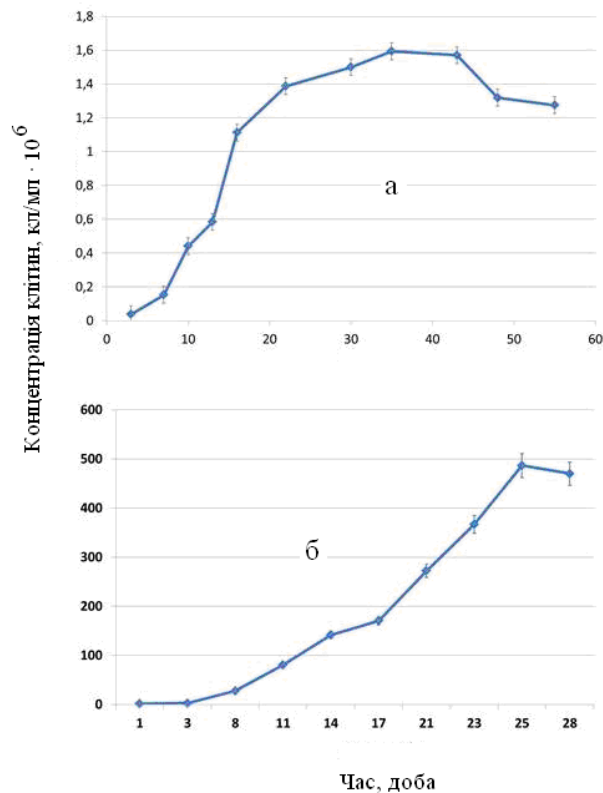


Рис. 1. Криві росту *Dunaliella salina* (а) та *Chlorococcum dissectum* (б) на рідких поживних середовищах

Визначення життєздатності клітин за допомогою культивування на рідких та твердих поживних середовищах – досить тривалий процес, який займає від одного до кількох тижнів. Тому нами були досліджені експрес-методи оцінки збереженості культур.

AB- та MTT-тести

Визначення життєздатності культур *C. dissectum* та *D. salina* шляхом аналізу метаболічної активності клітин показало успішність використання АВ-тесту. Чітко простежується підвищення умовних одиниць флуоресценції (УОФ) у зразках з інтактними клітинами на відміну від інактивованих, що свідчить про придатність методики для оцінки показників життєздатності даних видів мікроводоростей (рис. 2).

Використання МТТ-тесту для оцінки життєздатності клітин мікроводорості *C. dissectum* дозволило встановити кореляцію між інтенсивністю забарвлення та кількістю життєздатних клітин у зразку (рис. 3).

Таблиця. Визначення життєздатності клітин *Chlorococcum dissectum* за здатністю до колонієутворення (чашковий метод Коха) у зразках з інтактною та інактивованою культурою на 10 добу спостереження

Зразок	$\times 10^8$ КУО/мл	
Інтактна культура	$0,70 \pm 0,03$	
Інактивована культура	0	

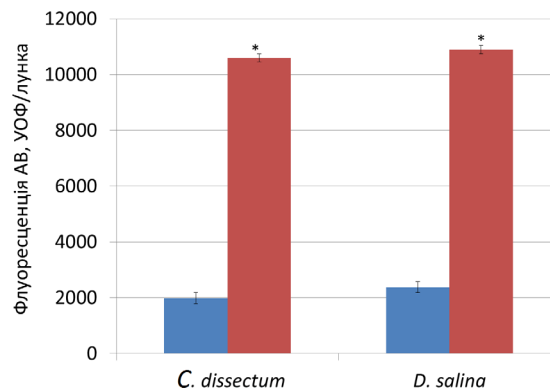


Рис. 2. Показники флуоресценції в культурах мікроводоростей *Chlorococcum dissectum* та *Dunaliella salina* за тестом відновлення Alamar Blue: ■ – інактивовані клітини, ■ – інтактні.

* – Різниця статистично значуща порівняно з інактивованими зразками ($p < 0,01$)

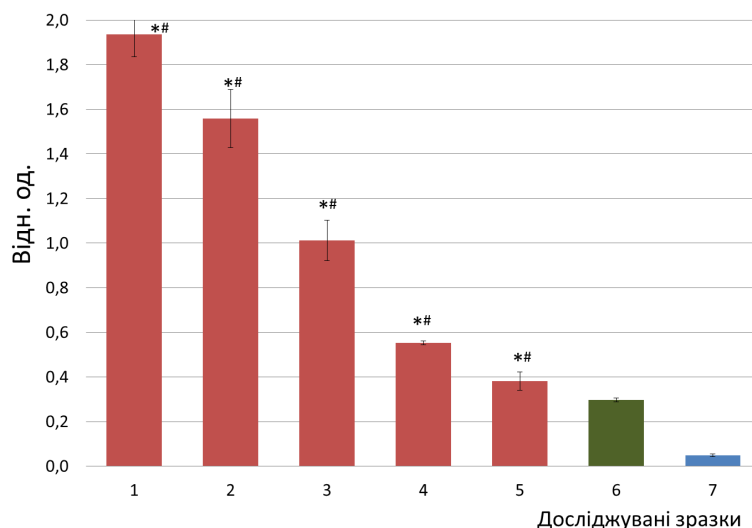


Рис. 3. Оптична щільність досліджуваних зразків за МТТ-тестом: 1–5 – *Chlorococcum dissectum* з різною концентрацією клітин: 118×10^6 кл/мл, $84,6 \times 10^6$ кл/мл, $45,8 \times 10^6$ кл/мл, 19×10^6 кл/мл та $10,8 \times 10^6$ кл/мл відповідно; 6 – інактивовані клітини; 7 – середовище культивування без додавання клітин. * – Різниця статистично значуща порівняно з інактивованими зразками ($p < 0,05$); # – порівняно з середовищем культивування без клітин ($p < 0,01$)

Для клітин *D. salina* МТТ-тест виявився нерезультативним і не дозволив встановити кореляції між живими та мертвими клітинами. Ймовірно, що під час інкубації барвник вступає в реакцію з надмірною кількістю пігментів у культурі, які синтезуються у відповідь на високу концентрацію хлориду натрію в середовищі, і спектрофотометрія дає хибні результати (Chernobai et al., 2019). Цей метод потребує додаткових досліджень.

Відтак для лабораторної практики у якості додаткового методу визначення життєздатності культур *C. dissectum* та *D. salina* можливе використання АВ-тесту, тоді як МТТ-тест може застосовуватися тільки для культури *C. dissectum*.

Забарвлення ТТХ

Використання ТТХ для визначення життєздатності клітин *C. dissectum* показало відновлення барвника до помаранчевих кристалів формаза на в інтактній культурі, тоді як в інактивованій забарвлення не відбувалося (рис. 4).

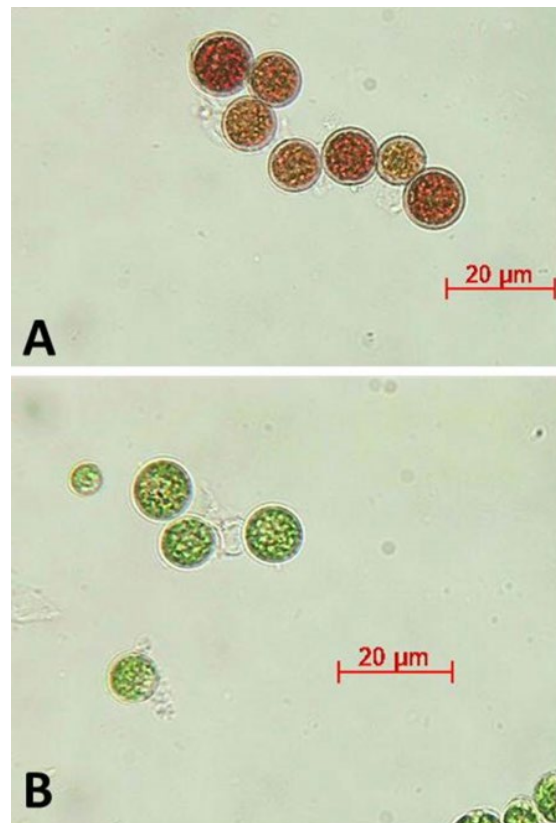


Рис. 4. Забарвлення *Chlorococcum dissectum* за допомогою ТТХ: *A* – інтактні клітини, *B* – інактивовані

Забарвлення зразків *D. salina* за допомогою ТТХ виявилося не інформативним, інтактні клітини під мікроскопом мали такий самий колір, як і інактивовані (рис. 5). Вірогідно, це пов'язано з пігментним складом клітин мікроводорості *D. salina*, оскільки відомо, що вони здатні до накопичення значної кількості каротиноїдів, які під мікроскопом мають помаранчево-коричневе забарвлення (Chernobai et al., 2019).

Забарвлення трипановим синім

Незважаючи на те, що даний метод користується великим попитом для швидкої оцінки збереженості клітин після кріоконсервування та дії інших пошкоджуючих факторів, забарвлення трипановим синім не виявилося інформативним для використання на культурах *C. dissectum* та *D. salina*. Причина полягає в особливості їхньої морфології та різному просторовому розміщенні клітин у краплі на предметному скельці. Спостерігається забарвлення лише оболонки інактивованих клітин *C. dissectum* та *D. salina*, що не дозволяє повністю оцінити їхній стан (рис. 6).

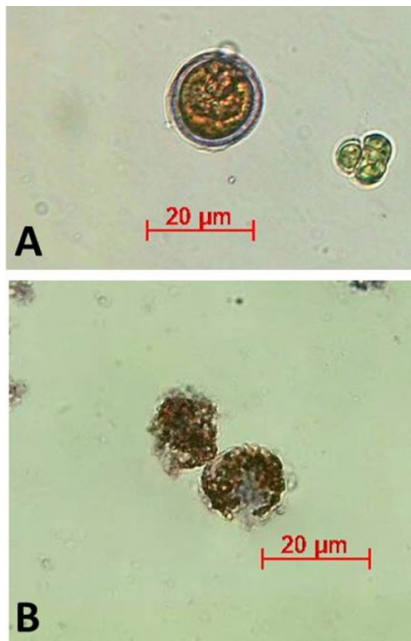


Рис. 5. Забарвлення *Dunaliella salina* за допомогою ТТХ: *A* – інтактні клітини, *B* – інактивовані



Рис. 6. Забарвлення інактивованих клітин *Chlorococcum dissectum* (*A*) і *Dunaliella salina* (*B*) після додавання трипанового синього

Висновки

Під час проведення експериментів по вибору ефективного методу визначення життєздатності культур мікроводоростей *Chlorococcum dissectum* та *Dunaliella salina* було показано, що успішність результату залежить від конкретного виду мікроводорості.

Для обох досліджених культур у якості методів оцінки збереженості клітин доцільним було використання АВ-тесту та культивування на рідких поживних середовищах. Використання чашкового методу Коха, МТТ-тесту та забарвлення ТТХ виявилось ефективним лише для мікроводорості *C. dissectum*. Методика забарвлення трипановим синім була не інформативною для обох культур через особливості проникнення барвника до клітин.

Список літератури

- Ahmed S.A., Gogal R.M., Walsh J.E. 1994. A new rapid and simple non-radioactive assay to monitor and determine the proliferation of lymphocytes: an alternative to ³H-thymidine incorporation assay. *J. Immunol. Meth.* 2(170): 211–224.
- Al-Rikabey M.N., Al-Mayah A.M. 2018. Cultivation of *Chlorella vulgaris* in BG-11 Media Using Taguchi Method. *J. Adv Res. Dynamic. Control Syst.* 10(7): 19–30.
- Anikina L., Puchov S., Dubrovskaya S., Afanasyeva S., Klochkov S. 2014. Comparative determination of cell viability using MTT and resazurin. *Fund. Res.* 7(12): 1423–1427.
- Aravantinou A.F., Manariotis I.D. 2016. Effect of operating conditions on *Chlorococcum* sp. growth and lipid production. *J. Environ. Chem. Eng.* 1(4): 1217–1223. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2016.01.028>
- Bonnier F., Keating M.E., Wróbel T.P., Majzner K., Baranska M., Garcia-Munoz A., Blanco A., Byrne H.J. 2015. Cell viability assessment using the Alamar blue assay: A comparison of 2D and 3D cell culture models. *Toxicol. in Vitro.* 29: 124–131. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2014.09.014>
- Borovkov A.B., Gudvilovich I.N., Avsiyan A.L., Memetshaeva O.A., Lelekov A.S., Novikova T.M., Kovalevsky A.O. 2019. Production characteristics of *Dunaliella salina* at two-phase pilot cultivation. *Turk. J. Fisher. Aquat. Sci.* 5(20): 401–408. https://doi.org/10.4194/1303-2712-v20_5_08
- Byth H., Mcunu B., Dubery I. 2001. Assessment of a simple, non-toxic Alamar blue cell survival assay to monitor tomato cell viability. *Phytochem. Anal.* 5(12): 340–348. <https://doi.org/10.1002/pca.595>
- Chernobai N., Kadnikova N., Kovalenko I. 2019. The role of cold adaptation in cryopreservation of *Dunaliella salina* Teod. microalgae. *Advan. Biol. Earth Sci.* 4(2): 119–127.
- Chowdhury M., Sheikh A., Miskat S., Mala K. 2016. Triacylglycerol profile of a microalga *Chlorococcum* sp. as a potential biofuel feedstock. *Bangladesh Acad. Sci.* 2(40): 147–153. <https://doi.org/10.3329/jbas.v40i2.30770>
- Del Egidio L.L., Navarro-Miró D., Martinez-Heredia V., Toorop P.E., Iannetta P. 2017. A spectrophotometric assay for robust viability testing of seed batches using 2,3,5-Triphenyl Tetrazolium Chloride: using *Hordeum vulgare* L. as a model. *Front. Plant Sci.* 8: 747. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00747>
- Fernández C., Hervás D., Rivas-Sendra A., Marín M., Seguí-Simarro J. 2018. Comparison of six different methods to calculate cell densities. *Plant Methods.* 14(1): 1–15. <https://doi.org/10.1186/s13007-018-0297-4>
- Handbook for practical classes in microbiology.* 1995. Ed. N.S. Egorova. Moscow: Moscow State Univ. Press. 224 c.
- Lu I.-F., Ming-Shiuan S., Tse-Min L. 2006. Salinity stress and hydrogen peroxide regulation of antioxidant defense system in *Ulva fasciata*. *Mar. Biol.* 1: 1–15.
- Petrenko S.A., Gorokhova N.A., Sandomirsky B.P., Petrenko A.Y. 2005. Determination of the metabolic activity of freshly isolated and cryopreserved human embryonic liver cells using Alamar Blue-test. *Probl. Cryobiol. Cryomed.* 4(15): 600–606.

- Prilepsky A.Yu, Drozdov A.S., Bogatyrev V.A., Staroverov S.A. 2019. *Methods of working with cell cultures and determination of toxicity of nanomaterials*. St. Petersburg: ITMO Univ. 43 p.
- Ramaraj S., Niranjana J. 2013. Modified medium for enhanced growth of *Dunaliella* strains. *Int. J. Curr. Sci.* 5: 67–73.
- Rampersad S.N. 2012. Multiple applications of Alamar Blue as an indicator of metabolic function and cellular health in cell viability bioassays. *Sensors*. 12: 12347–12360. <https://doi.org/10.3390/s120912347>
- Ryzhik I.V. 2013. Assessment of metabolic activity of fucus algae by tetrazolium method. *Algologia*. 1(23): 10–18. <https://doi.org/10.15407/alg23.01.010>
- Schrader K., Harries M. 2006. A rapid bioassay for bactericides against the catfish pathogens *Edwardsiella ictaluri* and *Flavobacterium columnare*. *Aquacult. Res.* 37: 928–937. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2006.01514.x>
- Shimomura Y., Ohno R., Kawai F., Kimbara K. 2006. Method for Assessment of Viability and Morphological Changes of Bacteria in the Early Stage of Colony Formation on a Simulated Natural Environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 72(7): 5037–5042. <https://doi.org/10.1128/AEM.00106-06>
- Stockert J., Horobin R., Colombo L., Blázquez-Castro A. 2018. Tetrazolium salts and formazan products in Cell Biology: Viability assessment, fluorescence imaging, and labeling perspectives. *Acta Histochem.* 3(120): 159–167. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2018.02.005>
- Tafreshi A., Shariati M. 2009. *Dunaliella* biotechnology: methods and applications. *J. Appl. Microbiol.* 107: 14–35. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04153.x>
- Xu M., McCanna D.J., Sivak J.C. 2015. Use of the viability reagent Presto Blue in comparison with Alamar Blue and MTT to assess the viability of human corneal epithelial cells. *J. Pharm. Toxicol. Methods*. 71: 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.vascn.2014.11.003>
- Yuana J., Chenb F., Liua X., Zhen X. 2002. Carotenoid composition in the green microalga *Chlorococcum*. *Food Chem.* 76: 319–325. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00279-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00279-5)
- Zidarova R., Pouneva I. 2006. Physiological and biochemical characterization of Antarctic isolate *Chlorocystis minor* during oxidative stress at different temperatures and light intensities. *Gen. Appl. Plant. Physiol.* 32(1–2): 109–117.

Підписала до друку О.К. Золотарьова

Chernobai N.A., Vozovik K.D., Kadnikova N.G. 2021. **Comparative analysis of methods for assessing the safety of *Dunaliella salina* Teodoresco and *Chlorococcum dissectum* Korshikov (*Chlorophyta*) microalgae cultures after exposure to stress factors.** *Algologia*. 31(4): 353–364

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the NAS of Ukraine,
23 Pereyaslavskaya Str., Kharkiv 61016, Ukraine

The possibility of using various methods for determining the viability of cultures of microalgae *Dunaliella salina* and *Chlorococcum dissectum* before and after freezing-warming was

investigated and analyzed. It has been established that the selection of an effective method should be carried out individually for each culture. For an integral assessment of the proliferative and metabolic activity of cells of both species of the studied microalgae, Alamar Blue-test and the ability to grow on liquid nutrient media can be used. The use of the Koch plate method, MTT-test and TTC staining is possible only for the microalga *C. dissectum*. Vital staining with trypan blue was found to be incorrect.

Key words: viability, microalgae, *Chlorococcum dissectum*, *Dunaliella salina*, Alamar Blue, MTT-test, TTC, trypan blue

Особливості сезонної сукцесії фітопланктону в прибережній зоні Криму (Чорне море) у різні за кліматичними умовами роки (2009–2014)

Брянцева Ю.В.

*Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України,
вул. Терещенківська, 2, Київ 01601, Україна
brekall5@gmail.com*

Надійшла до редакції 25.09.2021. Після доопрацювання 18.10.2021. Підписана до друку 20.10.2021.
Опублікована 22.12.2021

Реферат. Досліджена динаміка фітопланктону різних функціональних комплексів видів за умов кліматичних змін. Відомо про довгостроковий вплив попередніх холодних зим на сезонну сукцесію фітопланктону та інтенсивність «цвітіння» у відкритих водах Чорного моря. У прибережній зоні цей зв'язок ще недостатньо вивчений. На основі регулярних моніторингових досліджень у прибережній зоні Севастополя (2009–2014) встановлено особливості протікання сезонної сукцесії в різні за кліматичними особливостями роки, на основі місячної температури поверхні моря. Роки з холодними осінньо-зимовими періодами, що їм передували (2012, 2014) відрізнялися від таких з теплими (2010, 2013) більш тривалим домінуванням за чисельністю діатомових комплексів, особливо дрібноклітинних видів, які характеризують початкову стадію сезонної сукцесії фітопланктону. Рівень розвитку діатомей і дінофлагеллят був мінімальним порівняно з іншими роками, з запізненням періодів максимумів. Теплі ж роки характеризувалися більш раннім розвитком. Як діатомові, так і дінофлагелляти досягали максимального розвитку в теплі роки навесні й восени. У роки помірних температурних умов (2009, 2011) їхній розвиток відбувався за аналогією з «холодними» або «теплыми» роками. Описана вище сукцесія типова для північно-західної частини Чорного моря, зокрема прибережної зони Севастополя, і відрізняється для північно-західної частини, описаної нами раніше (1992–1993). Відмінності полягали у збільшенні частки I і III стадій сукцесії за рахунок зниження II порівняно з 1992–1993 рр.

К л ю ч о в і с л о в а: фітопланктон, сукцесія, екологічні комплекси, прибережжя Криму, Чорне море

© Брянцева Ю.В., 2021

Вступ

Сукцесія – це закономірний розвиток екосистеми у бік стійкого стану, тобто стану з низькою ентропією (Odum, 1986), що є одним із фундаментальних положень екології. Сукцесія відбувається внаслідок змін фізичного середовища і взаємодії конкуренція–співіснування на популяційному рівні. Однак фізичне середовище визначає характер і швидкість змін, часто обмежуючи розвиток популяцій.

Одним із основних біологічних регуляторних процесів у водному середовищі є вичерпання біогенних елементів у фотичній зоні фітопланктон, який розвивається. Це призводить до кількісних і якісних змін – розмірної і видової (групової) структури (Vinogradov, Shushkina, 1987). Заміщення діатомових, чутливих до постачання біогенними елементами, динофлагеллятами, більшість з яких здатна до міксотрофії, характерне для весняно-літньої сукцесії фітопланктону, коли основну роль у надходженні біогенних елементів відіграє біотична регенерація. Саме за рахунок останньої створюється більше половини первинної продукції. При цьому найбільшого розвитку досягають дрібні джгутикові водорості (Vedernikov et al., 1983).

Велика кількість біотопів у Чорному морі визначає різноманіття в розвитку фітопланктону і сезонному перебігу сукцесійних процесів у кожному районі. Дослідження багатовидових систем – дуже складне завдання. Тому «необхідно розділити систему на деякі функціональні екологічні групи-елементи, узагальнені характеристики яких (перш за все, трофічні та розмірні) можна вважати подібними» (Vinogradov, Shushkina, 1987). На додаток до положення про стадії сукцесії, розроблений Д.Р. Маргалефом (Margalef, 1958), Л.А. Виноградовою були виділені комплекси видів, які закономірно змінюють один одного (Vinogradova et al., 1979). Як правило, у фітопланктоні присутні представники всіх комплексів, але їхні співвідношення і склад домінуючих видів значно варіюють від сезону до сезону також по районах (Bryantseva, 2000).

Великий інтерес представляє дослідження динаміки фітопланктону різних таксономічних груп (від видів та їхніх комплексів до угруповань мікроводоростей у цілому) в умовах зміни клімату. Так, у результаті аналізу температурних умов попереднього осінньо-зимового періоду кожного року виявлені значні відмінності між, умовно, «холодними» й «теплыми» роками. Було показано довгостроковий вплив попередніх холодних зим на хід сезонної сукцесії фітопланктону у відкритих водах Чорного моря (Mikaelyan et al., 2018) та інтенсивність «цвітіння» водоростей, що пов'язано з відомим ефектом інтенсифікації надходження біогенних елементів у верхні шари моря (Kubryakova et al., 2018). У прибережній зоні, де більша роль надходження зі стоками річок і регенерації біогенних елементів, цей механізм ще недостатньо вивчений.

Під час моніторингових досліджень, проведених співробітниками Інституту біології південних морів НАН України (2009–2014) у прибережній зоні Севастополя, були отримані дані, які дозволили визначити особливості розвитку комплексів видів у сезонній сукцесії та співставити їх у багаторічній динаміці з урахуванням температурних умов у певні роки.

Таким чином, метою досліджень було виявлення особливостей сезонної та багаторічної динаміки комплексів видів у їхній сукцесії в різні за температурних умов роки.

Матеріали та методи

Проаналізовані дані шестирічного моніторингу (січень 2009 р. – грудень 2014 р.) на станції в шельфовій зоні (44°38'N, 33°27'E) в 2-х мілях навпроти бухти Кругла (м. Севастополь) У цей період проводили щомісячний відбір проб фітопланктону для оцінки видового складу мікроводоростей у верхньому шарі.

Згідно з літературними даними, на основі дистанційного зондування температури поверхні моря кожного місяця визначені роки з теплими та холодними осінньо-зимовими періодами що передували. 2012 і 2010 рр. віднесені, відповідно, до «холодного» і «теплого» (Serikova et al., 2015). Аналогічно 2014 р. віднесено до «холодного», 2013 р. – до «теплого», а 2009 і 2011 рр. – до «помірних» (Євстігнєєв та ін., неопубл. дані).

Проби води для визначення характеристик фітопланктону відбирали 5-літровим батометром Ніскина з приповерхневого горизонту (приблизно 0,2 м). Використовували методику зворотної фільтрації (Radchenko et al., 2010) через мембранні фільтри з діаметром пор 2 мкм, але в залежності від розмірів клітин підраховували їхню кількість у камерах об'ємом 0,1 мл (нано) і 2,0 мл (мікро). Ідентифікували види під світловим мікроскопом (200x та 400x). Розраховували основні параметри фітопланктону – об'єм клітин, чисельність, біомасу та видове багатство за відомими методиками які використовувались нами раніше (Bryantseva et al., 2005, 2009). Таксономічні назви представлені відповідно до бази даних (Guiry, Guiry, 2021).

Класифікація всіх видів за комплексами та стадіями сукцесії здійснена із застосуванням методики (Vinogradova et al., 1979). В її основу покладено принцип фізіологічної подібності певних груп водоростей залежно від таксономічної приналежності, форми та розміру клітин. Нижче наведено характеристики кожного комплексу в порядку домінування в сезонній сукцесії фітопланктону за чисельністю в приповерхневому горизонті води (табл. 1).

Таблиця 1. Характеристика комплексів водоростей та їхня відповідність стадіям сукцесії

Таксон	Ознаки	Об'єм клітини, мкм ³	Комплекс	Стадія сукцесії
<i>Bacillariophyta</i>	Низькоциліндричні	< 1000	1	I
<i>Bacillariophyta</i>	Витягнуті	< 1000	2	
<i>Bacillariophyta</i>	Витягнуті	> 1000	3	II
<i>Bacillariophyta</i>	Низькоциліндричні	> 1000	4	
<i>Dinoflagellata</i>	Безпанцирні	< 2000	5	III
<i>Dinoflagellata</i>	Панцирні	> 2000	6	
<i>Dinoflagellata</i>	Панцирні	< 2000	7	
<i>Dinoflagellata</i>	Безпанцирні	> 2000	8	
<i>Chrysophyta</i>	–	–	9	IV
<i>Flagellata</i>	–	–	10	
<i>Cyanophyta</i>	–	–	11	
<i>Chlorophyta</i>	–	–	12	
<i>Euglenophyta</i>	–	–	13	
<i>Xanthophyta</i>	–	–	14	

Примітка. Представники класу *Cryptophyceae* віднесені до 5-го комплексу; «–» – без ознак.

Результати та обговорення

За період досліджень у пробах, зібраних у приповерхневому шарі моря, ідентифіковано 118 видів, з них 48 діатомових (Bryantseva, Sergeeva, 2017), 75 видів динофлагеллят (Bryantseva et al., 2016) і 12 інших видів, у т.ч. дрібних джгутикових. Унікальним виявився 31 вид (26%) для кожного року, а 18 видів (22%) траплялися в усі досліджувані роки. Найбільша кількість унікальних видів (14) виявлена в 2010 р., з них 8 видів діатомей, 6 динофлагеллят і 1 вид золотистих – міксотрофна водорість *Dinobryon sertularia* Ehrenb., відома для північно-західної частини Чорного моря, яка рідко трапляється в районі Севастополя (табл. 2).

Таблиця 2. Унікальні види водоростей у досліджувані роки

Вид	Відділ	Рік					
		2009	2010	2011	2012	2013	2014
<i>Striatella unipunctata</i>	Вас	+					
<i>Tabularia fasciculata</i>	Вас	+					
<i>Gonyaulax minima</i>	Din	+					

<i>Protoperidinium subinermis</i>	Din	+					
<i>Pontosphaera nigra</i>	Coc	+					
<i>Trieres mobiliensis</i>	Bac		+				
<i>Achnanthes brevipes</i>	Bac		+				
<i>Bacteriastrum hyalinum</i>	Bac		+				
<i>Chaetoceros tortissimus</i>	Bac		+				
<i>Cocconeis distans</i>	Bac		+				
<i>Coscinodiscus granii</i>	Bac		+				
<i>Entomoneis paludosa</i>	Bac		+				
<i>Pleurosigma angulatum</i>	Bac		+				
<i>Akashiwo sanguinea</i>	Din		+				
<i>Dinophysis sacculus</i>	Din		+				
<i>Gonyaulax clevei</i>	Din		+				
<i>Gymnodinium variabile</i>	Din		+				
<i>Protoperidinium pentagonum</i>	Din		+				
<i>Dinobryon sertularia</i>	Chr		+				
<i>Nitzschia paxillifera</i>	Bac			+			
<i>Coscinodiscopsis jonesiana</i>	Bac			+			
<i>Gymnodinium lacustre</i>	Din			+			
<i>Chaetoceros diversicurvatus</i>	Bac				+		
<i>Kapelodinium vestifici</i>	Din				+		
<i>Lebouridinium glaucum</i>	Din				+		
<i>Micracanthodinium bacilliferum</i>	Din				+		
<i>Prorocentrum lima</i>	Din				+		
<i>Acanthoica quattropsina</i>	Coc				+		
<i>Rhabdosphaera longistylis</i>	Coc				+		
<i>Monaster rete</i>	Din					+	
<i>Protoceratium areolatum</i>	Din					+	

<i>Chaetoceros danicus</i>	Bac						+
<i>Hemiaulus hauckii</i>	Bac						+
<i>Leptocylindrus minimus</i>	Bac						+
<i>Margalefidinium citron</i>	Din						+
<i>Diplopsalopsis orbicularis</i>	Din						+
<i>Pyrocystis lunula</i>	Din						+
<i>Dinobryon balticum</i>	Chr						+
<i>Rhabdosphaera tubulosa</i>	Coc						+

П о з н а ч е н н я : «+» – наявність виду; пусті клітини – відсутність виду; Bac – діатомові; Din – дінофлагелляти; Coc – кокколитини; Chr – хрізофити.

Серед видів, виявлених у 2010 р., були теплолюбні: *Bacteriastrum hyalinum* Lauder, *Akashiwo sanguinea* (K.Hirasaka) G.Hansen & Moestrup), а також види з району Босфору: *Dinophysis sacculus* Stein, *Gymnodinium variable* E.C.Herdman та *Protoperdinium pentagonum* (Gran) Balech). Серед унікальних діатомових у різні роки траплялися бентосні види. Інколи у планктонні проби потрапляли *Striatella unipunctata* (Lingbye) C.Agardh, *Tabularia fasciculata* (C.Agardh) D.M.Williams, *Achnanthes adnate* Bory, *Cocconeis distans* Gregory і т.д. Їх можна не вважати унікальними для будь-якого року.

Міжрічні особливості сезонної динаміки чисельності комплексів видів (2009–2014) у порядку їхнього домінування в сезонній сукцесії розглянуті нижче.

1-й комплекс. Максимального розвитку представники комплексу досягли у вересні 2010 р. за рахунок надзвичайно потужного розвитку діатомових, коли їхні сумарні значення становили $866,9 \cdot 10^6$ кл./м³, переважно видів: *Chaetoceros socialis* Lauder – $442,4 \cdot 10^6$ кл./м³, *Chaetoceros* Ehrenb. sp. – $358,4 \cdot 10^6$ кл./м³ і *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve – $38,08 \cdot 10^6$ кл./м³ (рис. 1). В інші роки чисельність комплексу була на 1–2 порядки нижчою. Без урахування спалаху, найбільшого розвитку комплекс досяг у 2014 р., з максимальними показниками в лютому ($52,35 \cdot 10^6$ кл./м³), травні та листопаді.

Мінімальний розвиток комплексу зафіксовано в 2012 та 2013 рр. У середньому за весь досліджений період максимальним він був у лютому–травні та вересні (завдяки «спалаху» 2010 р.). Восени, в листопаді, 2014 р. відзначалося невелике, порівняно з весною, збільшення чисельності комплексу.

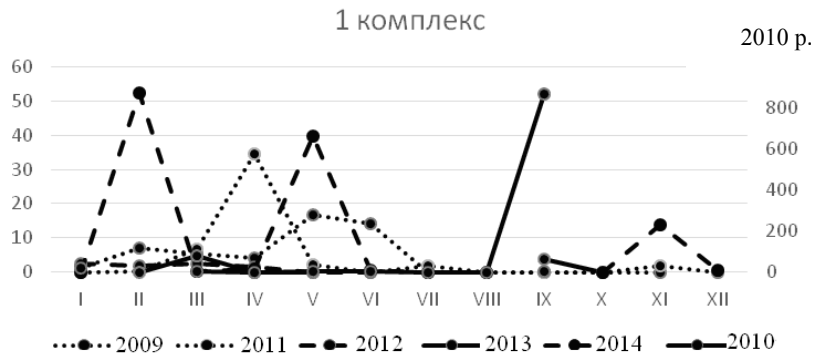


Рис. 1. Сезонна динаміка чисельності видів 1-го комплексу

2-й комплекс найбільшого розвитку досяг у 2014 р., мінімальна чисельність комплексу, або взагалі його відсутність у пробах спостерігалася в 2010 р. Тільки в 2014 р. максимуми розвитку припадали на березень і квітень. У березні домінуючий вид *Pseudo-nitzschia* cf. *delicatissima* (Cleve) Heiden досягав $104,2 \cdot 10^6$ кл./м³, в квітні – $133,3 \cdot 10^6$ кл./м³ (рис. 2). Чисельність інших видів не перевищувала $30 \cdot 10^6$ кл./м³. Впродовж липня – лютого розвиток комплексу був мінімальним. У 2014 р. чітко простежувалася заміна 1-го комплексу видами 2-го, коли піки розвитку одного збігалися з мінімумами іншого. Як і в 1-го комплексу, в листопаді 2014 р. спостерігалася невелике збільшення чисельності видів.



Рис. 2. Сезонна динаміка чисельності видів 2-го комплексу

3-й комплекс досяг найвищих значень серед усіх комплексів діатомових, за винятком 1-го комплексу у вересні 2010 р. (рис. 3). Максимальний розвиток 3-го комплексу припадав на березень 2013 р. завдяки *Pseudonitzschia* cf. *seriata* (Cleve) H.Peragallo ($444 \cdot 10^6$ кл./м³) і на вересень 2010 р., коли чисельність найдрібнішого представника комплексу *Thalassionema nitzschioides* (Grunow) Mereschk. досягла показника

$117,6 \cdot 10^6$ кл./м³. У «холодні» роки також спостерігалися значні (більші за $100 \cdot 10^6$ кл./м³), але менші ніж у «теплі» роки максимуми, зумовлені розвитком *P. cf. seriata* в березні 2014 р. – ($103,6 \cdot 10^6$ кл./м³ і в квітні 2012 р. – ($132,5 \cdot 10^6$ кл./м³). Серед видів малочисельними були види з великим розміром клітин, що зумовлювало високу біомасу: *Dactyliosolen fragillissima* (Bergon) Hasle (163 мг/м³, при чисельності $33,6 \cdot 10^6$ кл./м³ у вересні 2010 р.), *Proboscia alata* (Brightwell) Sundsröm (383 мг/м³, при чисельності $16,4 \cdot 10^6$ кл./м³ в червні 2009 р.) і *Pseudosolenia calcar-avis* (Schültze) Sundsröm з максимальною біомасою (483 і $989,4$ мг/м³ у серпні 2011 р. та липні 2014 р., відповідно). Чисельність комплексу була максимальною в «теплі» роки, але і в «холодні» також спостерігався їхній розвиток у квітні 2012 р., березні і листопаді 2014 р. У роки помірних температур ці види були представлені в мінімальній кількості.

4-й комплекс. Максимум цього комплексу, аналогічно першому, припадав на вересень 2010 р. ($190,4 \cdot 10^6$ кл./м³) за рахунок розвитку *Chaetoceros curvisetus* Cleve ($100,8 \cdot 10^6$ кл./м³) і *C. tortissimus* Gran ($72,8 \cdot 10^6$ кл./м³). У всі інші роки чисельність видів цього комплексу не досягала $35 \cdot 10^6$ кл./м³ (рис. 4). Як і в усіх попередніх комплексів, у листопаді 2014 р. відбувалося незначне збільшення чисельності видів. Без урахування «спалаху» у вересні 2010 р. максимуми припадали на квітень помірних 2009 і 2011 рр. і травень 2009 і 2014 рр.



Рис. 3. Сезонна динаміка чисельності 3-го комплексу видів

Як і в усі інші роки максимуми розвитку 4-го комплексу в квітні–травні були обумовлені розвитком *C. curvisetus*.

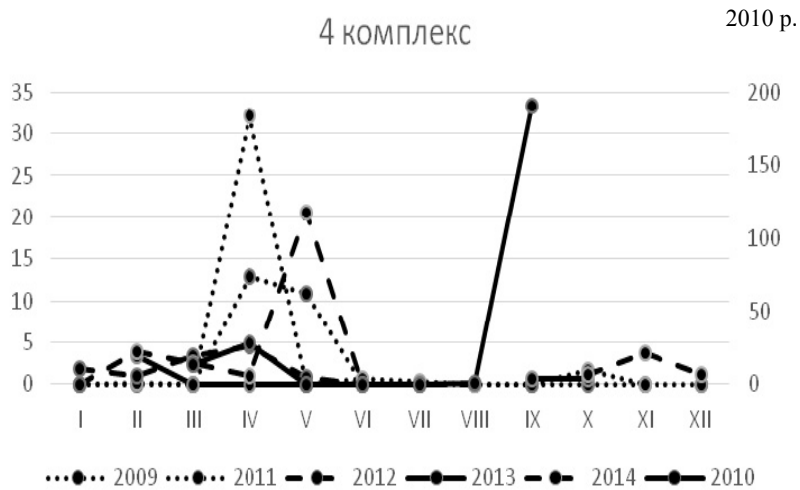


Рис. 4. Сезона динаміка чисельності 4-го комплексу видів

Отже, розвиток діатомових 1–4-го комплексів у 2009–2014 рр. відповідав класичній схемі з двома фазами сукцесії, яскраво вираженій у зимово-весняній, з максимумами в лютому–травні, і слабо вираженій в осінній (в листопаді). Винятком був вересень 2010 р., коли спостерігали надзвичайний «спалах» розвитку всіх комплексів, крім 2-го. Особливо високою була чисельність 1-го комплексу за рахунок розвитку дрібних представників роду *Chaetoceros* ($866,9 \cdot 10^6$ кл./м³). Чисельність 3-го і 4-го комплексів також сягала високих значень у цей період.

Комплекси дінофітових і кріптофітових водоростей

5-й комплекс включає дрібні безпанцирні дінофлагелляти та кріптофітові водорості. У порівнянні з діатомовими, чисельність 5-го комплексу була незначною, з максимумом у квітні 2010 р. за рахунок дрібної кріптофітової *Hillea fusiformis* (J.Schiller) J.Schiller і не виявлених до виду кріптофітових (по $10,88 \cdot 10^6$ кл./м³ кожна відповідно). У травні 2013 р. склад комплексу змінився, домінуючим тут став дрібний представник динофлагеллят *Protodinium simplex* Lohmann, чисельність якого становила $14,82 \cdot 10^6$ кл./м³. У середньому за досліджуваний період максимальна чисельність видів зафіксована у травні, значно менша – у серпні, проте в окремі роки максимуми припадали на березень–червень з двома періодами підйому, з яких перший, як правило, був довшим. У

«холодні» роки максимуми чисельності видів були в протифазі з іншими роками: в березні 2012 р., в лютому, червні та листопаді 2014 р.



Рис. 5. Сезона динаміка чисельності видів 5-го комплексу

6-й комплекс включав найбільш різноманітну групу великих панцирних динофлагеллят, чисельність яких була трохи вищою, ніж у 5-го комплексу (рис. 6), але вони значно поповнили сумарну біомасу завдяки великим розмірам клітин: у квітні 2010 р. – *Prorocentrum aporum* (Schiller) Dodge ($159,4 \text{ мг/м}^3$); *P. micans* Ehrenb. ($136,4 \text{ мг/м}^3$) і *P. bidens* J.Schiller ($128,6 \text{ мг/м}^3$).

Максимального розвитку представники 6-го комплексу досягли у квітні 2010 р. за рахунок домінуючого біolumінесцентного виду *Scrippsiella acuminata* (Ehrenberg) Kretschmann, Elbrächter, Zinssmeister, S.Soehner, Kirsch, Kusber & Gottschling ($12,21 \cdot 10^6 \text{ кл./м}^3$), більш відомого під назвою *S. trochoidea* (Stein) Loeblich III, і представників роду *Prorocentrum*: *P. aporum*, *P. cordatum* (Ostenfeld) Dodge і *P. bidens*. Період високих значень чисельності видів тривав впродовж березня–червня. У травні і жовтні 2013 р. 6-й комплекс досяг показників $23,77 \cdot 10^6 \text{ кл./м}^3$ в основному за рахунок *S. acuminata* ($20,07 \cdot 10^6 \text{ кл./м}^3$) та інших видів. У жовтні того ж року його змінив *P. cordatum*, який досяг $13,5 \cdot 10^6 \text{ кл./м}^3$. У середньому за період досліджень максимумами чисельності видів цього комплексу припадали на травень і жовтень. У «холодні» 2012 і 2014 рр. спостерігався мінімальний розвиток комплексу.

7-й комплекс включав дрібні панцирні динофлагелляти з невисокими показниками чисельності. Максимальною ($18,2 \cdot 10^6 \text{ кл./м}^3$) вона була у динофлагелляти *Lessardia elongata* Saldarriaga & F.J.R.Taylor в травні 2013 р. (рис. 7). Як і в 6-го комплексу, середня за 6 років максимальна чисельність видів 7-го комплексу спостерігалася в травні та жовтні.



Рис. 6. Сезонна динаміка чисельності видів 6-го комплексу

У 2010 р. піки максимумів припадали на більш ранні місяці – березень і червень, але не досягли значень 2013 р. У червні 2010 р. максимальна чисельність видів була обумовлена розвитком дінофлагелляти *Glenodinium paululum* Lindemann ($7,15 \cdot 10^6$ кл./м³). У «холодному» 2014 р. 7-й комплекс мав мінімальні показники чисельності видів.



Рис. 7. Сезонна динаміка чисельності видів 7-го комплексу

8-й комплекс складався з крупноклітинних безпанцирних дінофлагеллят, які завершують III стадію сезонної сукцесії. Чисельність їх була мінімальною порівняно з іншими комплексами дінофлагеллят. Це може бути пов'язано з труднощами підрахунку безпанцирних форм у фіксованому вигляді. Найкраще їх спостерігати у «живій» краплі, оскільки їхні клітини легко руйнуються.



Рис. 8. Сезонна динаміка чисельності 8-го комплексу видів

Жоден вид комплексу не досяг високих значень чисельності, а максимальна біомаса *Gymnodinium* F.Stein sp. і *Gymnodinium najadeum* J.Schiller у травні та червні 2010 р. не перевищувала 3,2 і 2,6 мг/м³ відповідно.

Загалом чисельність дінофлагеллят була істотно нижчою, ніж діатомових; найчастіше серед перших домінував 6-й комплекс, а серед других – 3-й (табл. 3).

Таблиця 3. Сезонна динаміка домінування комплексів видів фітопланктону (без IV стадії)

Рік	Місяць											
	*	Перша фаза							Друга фаза			
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
2009	3	3	3	3	2	3	3	3	3	6	6	–
2010	1	–	6	6	6	6	6	3	1	–	–	–
2011	6	3	1	1	6	6	3	6	6	6	6	6
2012	1	1	5	3	3	6	–	–	6	–	–	–
2013	–	4	3	6	–	–	3	–	1	6	–	6
2014	6	1	2	2	1	5	3	6	–	6	3	6

П р и м і т к а. Римськими цифрами позначені місяці; арабськими – номери домінуючих за чисельністю комплексів. На світлому фоні – домінуючі стадії: I і II (діатомові); на темному – III (дінофлагелляти); «–» – дослідження не проводились; * – закінчення другої фази.

Тривале домінування діатомових комплексів спостерігалось в 2009 і 2014 рр., особливо відзначався 2009 р. з максимальним переважанням 3-го комплексу (табл. 3). Лише восени (жовтень і листопад) домінуючими були великі панцирні дінофлагелляти (6-й комплекс). На відміну від попередніх років, у 2014 р. відмічався триваліший період домінування дрібних діатомових (1-й і 2-й комплекси).

Навпаки, в 2010 і 2011 рр. переважну частину дослідженого періоду становили дінофлагелляти: в 2010 р. спостерігали тривале домінування в першій половині року (з жовтня по грудень дані відсутні), а в 2011 р. – у другій половині (вересень–грудень). В інші роки через відсутність даних в окремі місяці важко судити про характер протікання сукцесії.

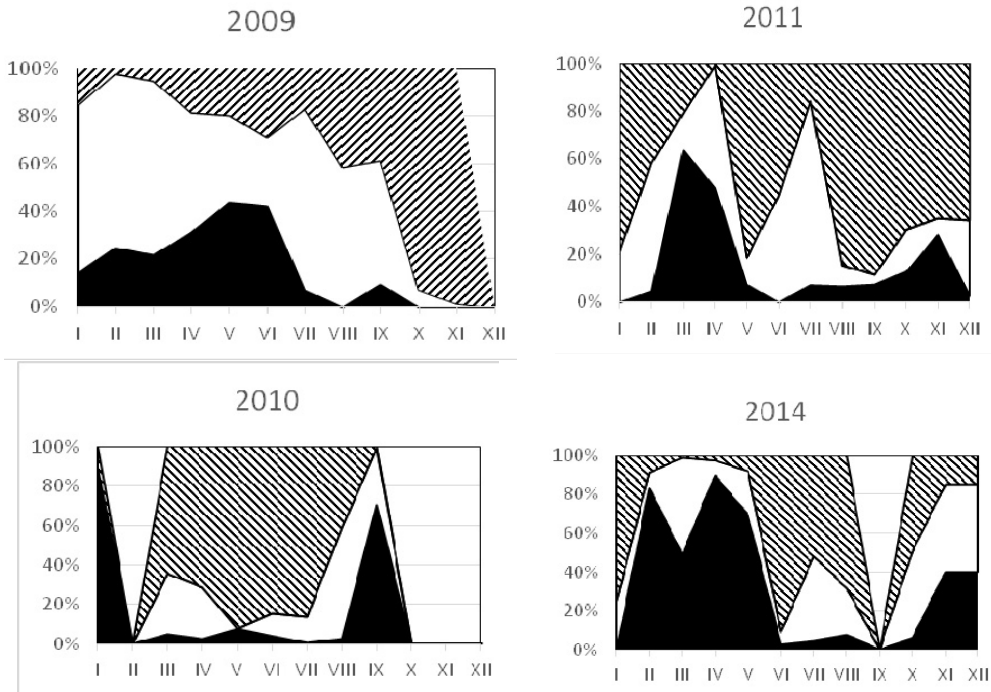


Рис. 9. Сезонна сукцесія фітопланктону ■ – I; □ – II; ▨ – III стадії

Серед місяців виділяються найпоказові, коли в усі роки стадії розвитку угруповань збігалися. Так, у травні–червні завжди відзначається завершальна III стадія, за винятком 2009 і 2014 рр., коли відбувалося переривання сукцесії і повернення угруповання на ранні стадії розвитку. У липні завжди домінувала II стадія внаслідок розвитку «шкідливих» видів – *P. alata* і *P. calcaravis*, які не досягали високої чисельності, але мали максимальну біомасу. Так було і в 2014 р., проте висока різноманітність дінофлагеллят зумовила більшу сумарну чисельність і домінуючою була 3-я стадія. При цьому біомаса *P. calcaravis* досягла максимальних значень для всього періоду дослідження. В усі роки спостережень у жовтні завжди домінувала III стадія.

Якщо підсумувати чисельність комплексів видів по стадіях сукцесії (без IV стадії, яка домінує більшу частину року), можна побачити, що кожен рік (2012 і 2013 рр. не включені, зважаючи на велику кількість

пропусків при відборі проб) мав свої особливості в динаміці сезонної сукцесії (рис. 9).

Помірний за кліматичними умовами 2009 р. (рис. 9) відрізнявся порушенням типового перебігу сезонної сукцесії, тобто з послідовним чергуванням стадій. Уже в січні домінуючою була II стадія, внесок якої був більш тривалим, ніж інших стадій (січень–квітень і липень–вересень). Частка першої стадії розвитку водоростей не перевищувала 40% у травні–червні, з мінімальним показником у другій фазі (осінньо-зимовій). Угрупування перейшло до III стадії тільки в другій фазі з максимальною часткою в жовтні–листопаді (у грудні спостереження не проводилися).

Найбільш повні дослідження були проведені в 2011 р. (рис. 9), тоді сезонна сукцесія протікала з яскраво вираженою першою весняно-літньою фазою з початком у березні, проміжним домінуванням II стадії в період літньої стагнації (червень–липень) і тривалим домінуванням III стадії розвитку в другу осінньо-зимову фазу, до лютого. Діатомові комплекси не розвивалися в другій фазі, їхній сумарний внесок не перевищував 30%, і тільки в лютому угрупування знаходилося на II стадії, його внесок понад 60%.

У «теплому» 2010 р. більшу частину дослідженого періоду угрупування перебувало на III стадії розвитку, в січні та вересні характеризувалося початковою стадією і тільки влітку (в серпні) домінуючою була II стадія (рис. 9). На противагу 2010 р., у «холодному» 2014 р. спостерігалось явне переважання ранніх стадій навесні (лютий–травень) і восени (жовтень–грудень), в літній період (червень–серпень) угрупування перебувало на III стадії розвитку.

Для 6-річного періоду спостережень у середньому всі стадії послідовно змінювали одна одну в ході сезонної сукцесії, що відповідають двом сукцесійним хвилям – тривалій весняно-літній і коротшій осінньо-зимовій (рис. 10). У першій половині року простежується послідовна зміна в розвитку; I стадія домінує вже в лютому, II – в березні, з максимальною чисельністю весь рік; III стадія – в травні–червні і завершується в серпні. У період літньої стагнації в липні найчастіше домінує *P. calcar-avis* з невисокими показниками чисельності, але максимальними об'ємами клітин, внаслідок чого має високу біомасу, іноді максимальну за весь рік. Період зміни стадій збігається з формуванням сезонного термокліну і перебудовою гідроструктури на літній тип. Осінній «спалах» (у вересні) діатомових I і II стадій також пов'язаний з початком руйнування сезонного термокліну і завершується домінуванням динофлагеллят (III стадія) у жовтні.

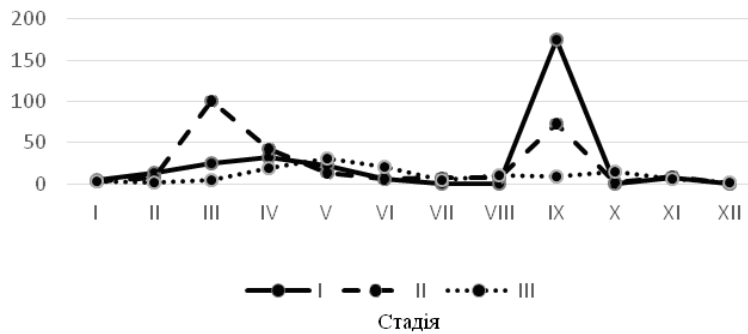


Рис. 10. Сезонна динаміка чисельності фітопланктону (млн кл./м³) за стадіями сукцесії, середня для досліджуваного періоду (2009–2014 рр.)

Висновки

Описана вище сукцесія типова для північно-західної частини Чорного моря, зокрема Севастопольської прибережної смуги, і відрізняється від середньої для північно-західної частини. Відмінності полягають у збільшенні частки I і III стадій сукцесії за рахунок зниження II порівняно з 1992–1993 рр. 1-й (без урахування вересневої «спалаху») і 2-й, що характеризують початкову I стадію сукцесії, інтенсивніше розвивалися в «холодному» 2014 р. Комплекс 3-й досягав максимумів у «теплі» роки, а в «холодні» також мав високі значення на початку весни. Найменша чисельність видів була у 4-го комплексу (без урахування вересневого «спалаху»), невелике збільшення спостерігалось у «помірні» 2009, 2011 рр. (у квітні) та в «холодний» 2014 р. (у травні).

Загалом чисельність дінофлагеллят була істотно нижчою, ніж діатомових, найчастіше серед перших домінував 6-й комплекс, а серед других – 3-й.

Аналіз особливостей сезонної сукцесії фітопланктону в роки з різними кліматичними особливостями показав, що «холодні» роки відрізнялися від «тепліх» тривалішим домінуванням діатомових комплексів, особливо дрібноклітинних видів, які характеризували початкову стадію сезонної сукцесії фітопланктону в 2014 р. Рівень розвитку як діатомей, так і дінофлагеллят був мінімальним порівняно з іншими роками, із зсувом періодів максимумів на більш пізні місяці. Навпаки, «теплі» роки характеризувалися переважанням дінофлагеллят протягом більшої частини дослідженого періоду, зі зрушенням максимумів на більш ранні місяці. При цьому як діатомові, так і дінофлагелляти інтенсивно розвивалися, максимально навесні та восени. Від усіх інших років 2010 р. відрізнявся «спалахами» розвитку дінофлагеллят у квітні та діатомових у вересні. У роки помірних кліматичних умов розвиток фітопланктону відбувався за аналогією з «холодними» або «теплыми» роками.

Список літератури

- Bryantseva Yu.V. 2000. *Variability of the Black Sea phytoplankton structural characteristics*. Ph.D. Thesis. Sevastopol. 17 p. [Брянцева Ю.В. 2000. *Изменчивость структурных характеристик фитопланктона в Черном море*: автореф. дисс. ... канд. биол. наук: 03.00.17. Севастополь. 17 с.].
- Bryantseva Yu.V., Sergeeva O.V. 2017. *Bacillariophyta* in the Sevastopol coastal zone (Black Sea, Crimea). *Int. J. Algae*. 19(1): 25–40. <https://doi.org/10.1615/InterJAlgae.v19.i1.20>
- Bryantseva Yu.V., Sergeeva A.V., Lyakh A.M. 2005. *Calculation of volumes and surface areas of unicellular algae of the Black Sea*. Sevastopol. 25 p. (Prepr./NAS of Ukraine. Institute of Biology of the Southern Seas). [Брянцева Ю.В., Сергеева А.В., Лях А.М. 2005. *Расчет объемов и площадей поверхности одноклеточных водорослей Черного моря*. Севастополь. 25 с. (Препр./НАН Украины. Институт биологии южных морей)].
- Bryantseva Yu.V., Lyakh A.M., Silakov M.I., Georgieva E.Yu. 2009. The use of new methods for processing data on phytoplankton during biophysical monitoring. *Ribne Gospodarstvo Ukrainy*. 4(63): 26–27. [Брянцева Ю.В., Лях А.М., Силаков М.И., Георгиева Е.Ю. 2009. Использование новых методик обработки данных по фитопланктону при проведении биофизического мониторинга. *Рибне господарство України*. 4(63): 26–27].
- Bryantseva Yu.V., Krakhmalnyi A.F., Velikova V.N., Sergeeva A.V. 2016. Checklist of Dinoflagellates in the Sevastopol coastal zone, Black Sea. *Int. J. Algae*. 18(1): 21–32. <https://doi.org/10.1615/InterJAlgae.v18.i1.20>
- Guiry M.D., Guiry G.M. 2021. *AlgaeBase*. World-wide electron. publ. Nat. Univ. Ireland, Galway.
- Krakhmalnyi A.F., Okolodkov Y.B., Bryantseva Yu.V., Sergeeva A.V., Velikova V.N., Derezyuk N.V., Terenko G.V., Kostenko A.G., Krakhmalnyi M.A. 2018. Revision of the dinoflagellate species composition of the Black Sea. *Algologia*. 28(4): 428–448. <https://doi.org/10.15407/alg28.04.428>
- Kubryakova E.A., Kubryakov A.A., Stanichny S.V. 2018. Impact of winter cooling on water vertical entrainment and intensity of phytoplankton bloom in the Black Sea. *Phys. Oceanogr*. 34(3): 206–222.
- Margalef D.R. 1958. In: *Perspect in Marine Biology*. Berkeley: Univ. California Press. Pp. 323–349.
- Mikaelyan A.S., Kubryakov A.A., Silkin V.A., Pautova L.A., Chasovnikov V.K. 2018. Regional climate and patterns of phytoplankton annual succession in the open waters of the Black Sea. Deep Sea Research. Pt I. *Oceanogr. Res. Papers*. 142: 44–57.
- Odum Y. 1986. *Ecology*. Moscow: Mir. 286 p. [Одум Ю. 1986. *Экология*. М.: Мир. 286 с.].
- Radchenko I.G., Kapkov V.I., Fedorov V.D. 2010. *A Practical Guide to Collecting and Analyzing Samples of Marine Phytoplankton: A Study Guide for Biological University Students*. Moscow: Mordvintsev Press. 60 p. [Радченко И.Г., Капков В.И., Федоров В.Д. 2010. *Практическое руководство по сбору и анализу проб морского фитопланктона: Учебно-методическое пособие для студентов биологических специальностей университетов*. М.: Мордвинцев. 60 с.].
- Vedernikov V.I., Nezlin N.P., Zernova V.V. 1983. In: *Seasonal changes in the Black Sea plankton*. Moscow: Nauka. Pp. 34–55. [Ведерников В.И., Незлин Н.П., Зернова В.В. 1983. О количественном развитии мелких жгутиковых водорослей в прибрежных водах северо-восточной части Черного моря. В кн.: *Сезонные изменения черноморского планктона*. М.: Наука. С. 34–55].

- Vinogradov M.E., Shushkina E.A. 1987. *Functioning of planktonic communities in the epipelagic zone of the ocean*. Moscow: Nauka. 240 p. [Виноградов М.Е., Шушкина Э.А. 1987. *Функционирование планктонных сообществ эпипелагиали океана*. М.: Наука. 240 с.].
- Vinogradova L.A., Voloshina G.V., Semenova S.N. 1979. Size-functional groups and flow patterns of matter in the plankton of the North Sea. *Trudy AtlantNIRO* (Kaliningrad). 78: 3–16. [Виноградова Л.А., Волошина Г.В., Семенова С.Н. 1979. Размерно-функциональные группы и схемы потока вещества в планктоне Северного моря. *Труды АтлантНИРО* (Калининград). 78: 3–16].

Підписала до друку Г.Г. Мінічева

Bryantseva Yu.V. 2021. **Features of the seasonal succession of phytoplankton in the Crimean coastal area (Black Sea) in years with different climatic conditions (2009–2014)**. *Algologia*. 31(4): 365–381

M.G. Kholodny Institute of the National Academy of Sciences of Ukraine,
2 Tereshchenkivska Str., Kyiv 01601, Ukraine

Under conditions of climatic changes, it is of great interest to study the dynamics of various functional complexes of phytoplankton species. The long-term influence of previous cold winters on the course of the seasonal succession of phytoplankton, as well as the intensity of blooms in the open waters of the Black Sea, were shown earlier. In the coastal zone, this relationship has not yet been sufficiently studied. Based on regular monitoring studies in the coastal area of Sevastopol from 2009–2014, features of the course of seasonal succession of phytoplankton in years with different climatic conditions were revealed: the “cold” years differed from the “warm” ones by a longer dominance of diatom complexes in terms of cell abundance, especially of small-celled species, which characterize the initial stage of seasonal succession of phytoplankton. The level of development of both diatoms and dinoflagellates was minimal compared to other years, with a shift in the periods of maxima to later months. In contrast, the “warm” years were characterized by the predominance of dinoflagellates for most of the study period, with a shift in timing of the maxima to earlier months. Both diatoms and dinoflagellates reached their maximal development in “warm” years in spring and autumn. In the “moderate” years, phytoplankton development proceeded either by analogy with the “cold” (2009) or “warm” (2011) years. The seasonal succession described above is typical for the northwestern Black Sea, in particular, the Sevastopol coastal area, and differs from the average pattern for the northwestern part described earlier for 1992–1993. The difference consisted of an increase in the proportion of stages I and III due to a decrease in stage II compared to 1992–1993.

K e y w o r d s: phytoplankton, succession, ecological complexes, Crimean coast, Black Sea

Нові дані до флори *Centrophyceae* (*Bacillariophyta*) Невської губи (Росія)

Генкал С.І.¹, Трифонова І.С.²

¹ Інститут біології внутрішніх вод ім. І.Д. Папаніна РАН,
сел. Борок, буд. 109, Некоузський р-н, Ярославська обл. 152742, Росія
genkal@ibiw.ru

² Інститут озеразнавства РАН,
вул. Севаст'янова, 9, Санкт-Петербург 196185, Росія
itrifonova@mail.ru

Надійшла до редакції 27.07.2021. Після доопрацювання 30.08.2021. Підписана до друку 02.09.2021.
Опублікована 22.12.2021

Реферат. Досліджували фітопланктон Невської губи за допомогою скануючої електронної мікроскопії та аналізу зображень стулок з іконотеки С.І. Генкала. Отримано нові дані про центричні діатомові водорості Невської губи. Виявлено нові для флори водойми види: *Aulacoseira scalaris* (Grunow) Houk, Klee et Passauer і *Stephanodiscus lacustris* Klee et Houk. Уточнено систематичне положення і поширення 14 видів і різновидностей *Centrophyceae* з родів *Aulacoseira* Thwaites, *Conticribra* K.Stachura-Suchoples & D.M.Williams, *Cyclostephanos* Round, *Ellerbeckia* R.M.Crawford, *Handmannia* M.Peragallo, *Pantocsekiella* K.T.Kiss & Ács, *Stephanodiscus* Ehrenberg і *Thalassiosira* Cleve. У результаті досліджень розширено видовий список класу *Centrophyceae* Невської губи, який на сьогодні налічує 41 вид і різновидність з 17 родів.

Ключові слова: *Bacillariophyta*, *Centrophyceae*, морфологія, скануюча електронна мікроскопія, *Aulacoseira scalaris*, *Stephanodiscus lacustris*, Невська губа, Росія

Вступ

Флора водоростей Невської губи вивчається з початку ХХ ст. (Kiselev, 1924; Kiseleva, 1949; Nikulina, 1987; Lange, 2006). За результатами досліджень з використанням світлового мікроскопа виявлено 165 таксонів водоростей. Серед них 30 представників *Centrophyceae* з 9 родів (*Aulacoseira* Thwaites – 6, *Cyclotella* (F.T.Kützinger) A.Brébisson – 6, *Chaeto-*

© Генкал С.І., Трифонова І.С., 2021

ceras Ehrenberg – 2, *Coscinidiscus* Ehrenberg – 2, *Melosira* C.A. Agardh – 2, *Rhizosolenia* T. Brightwell – 3, *Skeletonema* Greville – 1, *Stephanodiscus* Ehrenberg – 5, *Thalassiosira* Cleve – 3). Пізніше в результаті електронно-мікроскопічних досліджень виявлено 30 видів *Centrophyceae*, в т.ч. числі 14 нових для флори Невської губи з 5 родів: *Aulacoseira* – 1, *Cyclotella* – 4, *Stephanodiscus* – 6, *Skeletonema* – 1, *Thalassiosira* – 2 (Genkal, Trifonova, 2011). Уточнено систематичне положення ряду центричних діатомей та описані нові таксони (Houk et al., 2010, 2014, 2017; та ін.). На сьогодні необхідно провести ревізію раніше отриманих даних з урахуванням сучасних таксономічних обробок.

Мета даної роботи – на основі повторного вивчення зразків і аналізу зображень стулок з іконотеки С.І. Генкала отримати нові дані про центричні діатомові водорості Невської губи.

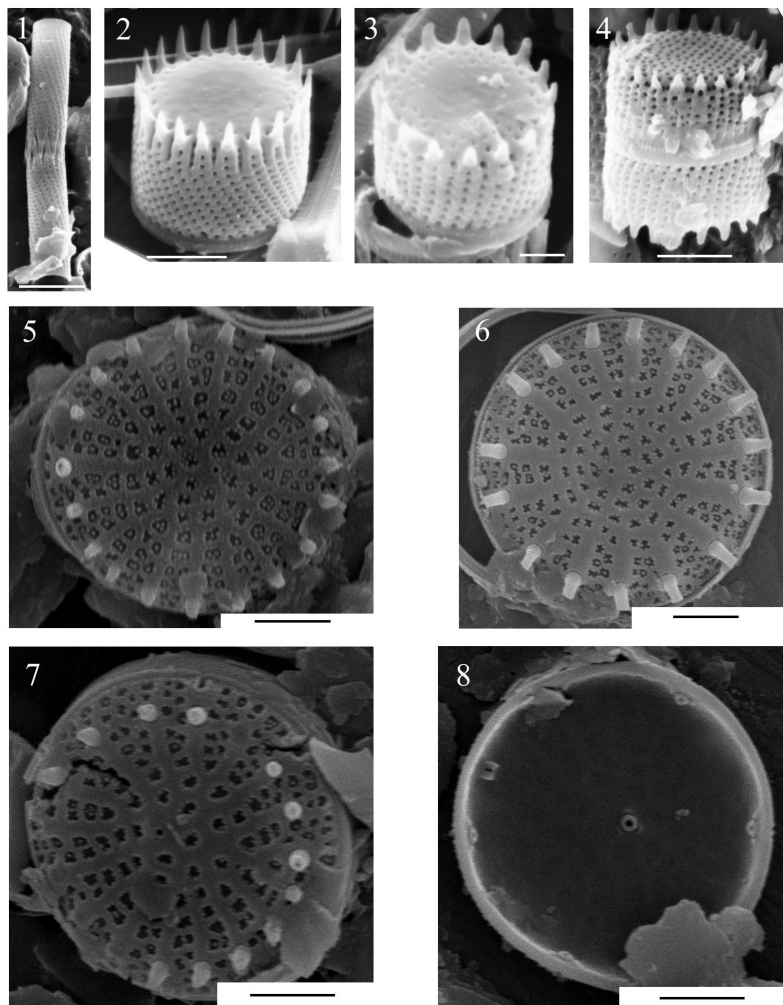
Матеріали та методи

Матеріалом для даного дослідження слугували проби фітопланктону, зібрані в Невській губі впродовж травня–жовтня 2005 р., а також негативи із зображенням стулок *Bacillariophyta* з іконотеки С.І. Генкала. Звільнення стулок діатомей від органічної речовини проводили методом холодного спалювання (Balonov, 1975). Препарати вивчали в скануючих електронних мікроскопах JSM-25S і JSM6510LV.

Результати та обговорення

За даними електронної мікроскопії, в Невській губі виявлено 5 видів роду *Aulacoseira*: *A. ambigua*, *A. granulata*, *A. islandica*, *A. subarctica* і *A. tenella* (Genkal, Trifonova, 2011). Denys et al. (2003) описали подібний вид – *A. subborealis*, і ми, поділяючи їхню точку зору, при визначенні представників цього роду до *A. subborealis* відносили форми з невисоким загином стулки, невеликими загостреними або конусовидними з широкою основою або притупленими шипами, поздовжніми спіральними або прямими рядами ареол на загині стулки (Genkal, Kulikovskiy, 2009). Разом з тим була виявлена широка варіабельність і перекривання основних діагностичних ознак *A. subarctica* і *A. subborealis*, а також відсутність гіатусу між цими видами по морфології і екології, що стало підставою для віднесення останнього виду в синоніміку до *A. subarctica* (Genkal, Kulikovskiy, 2009). У Таблиці, 1–4 представлені форми з Невської губи, які раніше відносили до *A. subarctica*. У монографії по центричним діатомовим водоростям на СЕМ ілюстраціях *A. subborealis* видно дуже короткі шипи (Houk et al., 2017, Plate 141, Figs 13–18) порівняно з такими на мікрофотографіях іншого автора (Denys et al., 2003, Figs 16, 18–22, 24). Тому ми, орієнтуючись на публікацію Houk et al. (2017), не змогли ідентифікувати наші деякі низькопанцирні форми (Таблиця, 3, 4), як

наприклад *A. subborealis*. Водночас були опубліковані результати досліджень подібних за морфологією видів, у т.ч. числі *A. scalaris*; ми ці форми віднесли до останнього (Таблиця, 3, 4).



Таблиця. Форми центричних діатомових водоростей Невської губи: 1, 2 – *Aulacoseira subarctica*; 3, 4 – *A. scalaris*; 5–8 – *Stephanodiscus lacustris*. 1–7 – стулки з зовнішньої поверхні, 8 – з внутрішньої. Масштаб: 1 – 10 мкм; 2, 4 – 5 мкм; 5–8 – 1 мкм

Згідно до діагнозу, на стулках є короткі конічні розділові або короткі закруглені зверху з'єднувальні шипи, ареоли на загині стулки розташовані в прямих рядах, на лицьовій частині стулки – хаотично, в центрі іноді відсутні (Houk, Klee, 2007; Houk et al., 2007, 2017). За кількісними ознаками (діаметр стулки 8,6–14,3 мкм, висота загину стулки 4,3–5,7 мкм, число рядів ареол 12–16 в 10 мкм, число ареол в ряду 20–25 в 10 мкм)

A. scalaris з Невської губи відповідає опису Houk et al. (2017). Винятком є число рядів ареол в 10 мкм. За діагнозом число рядів ареол становить 18 в 10 мкм і відмінності обумовлені, на нашу думку, міжпопуляційною мінливістю, яка спостерігається серед представників цього роду (Genkal, Trifonova, 2020). Якісні ознаки (розташування ареол на лицьовій частині стулки і її загин, форма шипів) також відповідають діагнозу *A. scalaris* (Таблиця, 3, 4; Houk et al., 2017). Певну плутанину вносять дані Houk et al. (2017). Зокрема, ілюстрації до *A. subborealis* в їхній статті (Plate 141, Figs 13, 15–17) наведені в роботі Houk, Klee (2007, Tab. LXVII, Figs 10, 11, LXVIII, Figs 1, 3) до опису *A. pusilla* (F.Meister) Tuji et Houk, але в першоописі останнього фігурують інші СЕМ мікрофотографії (Tuji, Houki, 2004, Figs 101–105).

За даними електронної мікроскопії, в Невській губі виявлено 9 видів роду *Stephanodiscus*: *S. alpinus*, *S. delicatus*, *S. hantzschii*, *S. invisitatus*, *S. makarova*, *S. minutulus*, *S. neoastrea*, *S. triporus* Genkal et Kuzmin, *S. volgensis* (Genkal, Trifonova, 2011). *Stephanodiscus triporus* був досліджений за допомогою світлової і трансмісійної електронної мікроскопії й основною діагностичною ознакою його була наявність центрального виросту з трьома опорами (Genkal, Kuzmin, 1978). Пізніше за результатами вивчення морфології цього виду з використанням скануючої електронної мікроскопії (Genkal, 2013) була вказана ще одна морфологічна особливість даного виду – наявність аркоподібної структури на зовнішній поверхні біля крайових виростів.

На основі вивчення матеріалів з Росії, Угорщини та Франції опубліковано розширений діагноз *S. triporus* Genkal & Kuzmin emend. Genkal, K.T.Kiss & Ács. В якості синонімів були вказані *S. triporus* var. *volgensis* і *S. vestibulis* Håkansson (Kiss et al., 2013). В одній з останніх монографій щодо центричних діатомових водоростей описано три нових для науки види (*S. lacustris* Klee et Houk, *S. hashiensis* H.Tanaka і *S. moraviensis* Houk, Klee et H.Tanaka), що мають центральний виріст з трьома опорами та аркоподібну структуру у крайових виростів (Houk et al., 2014). Форма з Невської губи (Таблиця, 5–8), яка була віднесена до *S. triporus* за кількісними (діаметр стулки 3,8–6,2 мкм, число штрихів 14–20 в 10 мкм, число ареол на кінці штрихів від 1 до 3, крайові вирости на кожному 3–5 ребрі) і якісними ознаками (рельєф стулки, форма шипів, будова ареол) відповідає діагнозу *S. lacustris* (Houk et al., 2014). Є лише відмінності в числі штрихів в 1 мкм. За діагнозом ця ознака варіює від 9,5 до 14,5, що обумовлено, на нашу думку, міжпопуляційною мінливістю, яка також спостерігається в інших представників роду *Stephanodiscus* (Genkal, Korneva, 1992; Genkal, 1993, 2004, 2007, 2010, 2013).

За літературними даними, в Невській губі виявлено 30 таксонів *Centrophyceae* з 9 родів (Kiselev, 1924; Kiseleva, 1949; Nikulina, 1987; Lange,

2006). У результаті наших досліджень виявлено 30 видів центричних діатомових водоростей з 9 родів, в т.ч. нових для флори. На сьогодні багато з них змінили систематичне положення.

Наводимо список *Centrophyceae* Невської губи з урахуванням нових даних їхньої таксономії: *Acanthoceras zachariasii* (Brun) Simonsen, *Aulacoseira ambigua* (Grunow) Simonsen, *A. granulata* (Ehrenberg) Simonsen var. *granulata*, *A. granulata* var. *angustissima* (O.Müller) Simonsen, *A. islandica* (O.Müller) Simonsen, *A. scalaris* (Grunow) Houk, Klee et Passauer, *A. subarctica* (O.Müller) Haworth, *Chaetoceras wighamii* Bright., *Chaetoceras* sp., *Conticribra guillardii* (Hasle) K.Stachura-Suchoples et D.M.Williams, *C. weissflogii* (Grunow) K.Stachura-Suchoples et D.M.William, *Coscinodiscus kuetzingii* A.W.F.Schmidt, *Cyclostephanos dubius* (Fricke) Round, *C. invisitatus* (Hohn et Hellerman) Theriot, Stoermer et Håkansson, *Cyclotella atomus* Hustedt var. *atomus*, *C. atomus* var. *gracilis* Genkal et Kiss, *C. meduanae* Germain, *C. meneghiniana* Kützing, *Discostella pseudostelligera* (Hustedt) Houk et Klee, *D. stelligera* (Cleve et Grunow) Houk et Klee, *Ellerbeckia arenaria* (Moore ex Ralfs) Crawford, *Handmannia comta* (Ehrenberg) Kociolek et Khursevich emend. Genkal, *Melosira varians* C.Agardh, *Pantocsekiella kuetzingiana* (Thwaites) K.T.Kiss & E.Ács, *P. schumannii* (Grunow) K.T.Kiss et Ács, *P. tripartita* (Håkansson) K.T.Kiss et Ács, *Rhizosolenia eriensis* H.L.Smith var. *eriensis*, *Rhizosolenia eriensis* var. *morsa* W. et G.West, *Rh. longiseta* Zacharias, *Skeletonema potamos* (Weber) Hasle, *S. subsalsum* (Cleve-Euler) Bethge, *Stephanodiscus alpinus* Hustedt, *S. binderanus* (Kützing) Krieger, *S. delicatus* Genkal, *S. hantzschii* Grunow, *S. lacustris* Klee et Houk, *S. makarovae* Genkal, *S. minutulus* (Kützing) Cleve et Möller, *S. neoastreae* Håkansson et Hickel emend. Casper, Scheffler et Augsten, *S. volgensis* Genkal et Korneva, *Thalassiosira baltica* (Grunow) Ostfeld, *T. lacustris* (Grunow) G.R.Hasle (Krammer, Lange-Bertalot, 1991; Houk et al., 2010, 2014, 2017; Kulikovskiy et al., 2016; Genkal et al., 2020).

Деякі види, наведені в списку Lange (2006), вимагають коментарів. *Aulacoseira distans* (Ehrenberg) Simonsen відноситься до викопних видів (Houk et al., 2017) і, за даними електронної мікроскопії, для Росії невідомий (Kulikovskiy et al., 2016; Genkal et al., 2020). Наші дослідження показали, що раніше до цього виду помилково відносили інший подібний за морфологією низькопанцирний вид *A. subarctica* (Genkal, 1999). Другий вид – *A. italica* (Ehrenberg) Simonsen також визначали неточно і до нього відносили подібний за морфологією *A. ambigua* (Genkal, 1999). *Cyclotella glomerata* Bachmann, за даними світлової мікроскопії, має велику схожість з *Discostella stelligera* (Cleve et Grunow) Houk et Klee та *D. pseudostelligera* (Hustedt) Houk et Klee (Houk et al., 2010). Однак *D. glomerata* (Bachmann) Houk et Klee відрізняється від зазначених вище двох видів розташуванням крайових виростів (Houk et al., 2010) і в Росії не виявлений (Kulikovskiy et al., 2016; Genkal et al., 2020).

Заключення

У фітопланктоні Невської губи виявлено 2 нових для флори водойми види *Aulacoseira scalaris* і *Stephanodiscus lacustris*. Уточнено систематичне положення і поширення 14 видів і різновидів *Centrophyceae* з 7 родів і видовий склад цього класу, який на сьогодні налічує 41 вид і різновидність з 17 родів.

Робота виконана в рамках державних завдань № 121051100099-5 і «Комплексна оцінка динаміки екосистем Ладозького озера і водойм його басейну під впливом природних і антропогенних факторів» (№ ААА-А19-119031890106-5).

Список літератури

- Balonov I.M. 1975. In: *Methods for the study of biocenoses*. Moscow: Nauka. Pp. 87–89.
[Балонов И.М. 1975. Подготовка диатомовых и золотистых водорослей к электронной микроскопии. В кн.: *Методика изучения биогеоценозов внутренних водоемов*. М.: Наука. С. 87–89].
- Denys L., Muylaert K., Krammer K., Joosten T., Reid M., Rioual P. 2003. *Aulacoseira subborealis* stat. nov. (*Bacillariophyceae*): a common but neglected plankton diatom. *Nova Hedw.* 77(3–4): 407–427.
- Genkal S.I. 1993. Large-celled undulate species of the genus *Stephanodiscus* Ehr. in USSR reservoirs: morphology, ecology and distribution. *Diatom Res.* 8(1): 45–64.
- Genkal S.I. 2004. Taxonomy of small-sized species of the genus *Stephanodiscus* (*Bacillariophyta*). 1. *Stephanodiscus delicatus*. *Bot. J.* 89(11): 1814–1821. [Генкал С.И. 2004. Таксономия мелкоклеточных видов рода *Stephanodiscus* (*Bacillariophyta*). 1. *Stephanodiscus delicatus*. *Бот. журн.* 89(11): 1814–1821].
- Genkal S.I. 2007. Morphology, taxonomy, ecology and distribution of small-sized species of the genus *Stephanodiscus* (*Bacillariophyta*). 2. *Stephanodiscus makarovae*. *Bot. J.* 92(2): 241–248. [Генкал С.И. 2007. Морфология, таксономия, экология и распространение мелкоразмерных видов *Stephanodiscus* (*Bacillariophyta*). 2. *Stephanodiscus makarovae*. *Бот. журн.* 92(2): 241–248].
- Genkal S.I. 2010. Morphology, taxonomy, ecology and distribution of small-sized species of the genus *Stephanodiscus* (*Bacillariophyta*) 3. *Stephanodiscus minutulus*. *Bot. J.* 95(9): 1247–1254. [Генкал С.И. 2010. Морфология, таксономия, экология и распространение мелкоразмерных видов *Stephanodiscus* (*Bacillariophyta*). 3. *Stephanodiscus minutulus*. *Бот. журн.* 95(9): 1247–1254].
- Genkal S.I. 2013. To the taxonomy of *Stephanodiscus triporus* (*Bacillariophyta*). *Novosti Sist. Nizsh. Rast.* 47: 21–27. [Генкал С.И. 2013. К таксономии *Stephanodiscus triporus* (*Bacillariophyta*). *Новости сист. низш. раст.* 47: 21–27].
- Genkal S.I., Kulikovskiy M.S. 2009. On taxonomic position of *Aulacoseira subborealis* (*Bacillariophyta*). *Bot. J.* 94(9): 1359–1370. [Генкал С.И., Куликовский М.С. 2009.

- О систематическом положении *Aulacoseira subborealis* (Bacillariophyta). *Бот. журн.* 94(9): 1359–1370].
- Genkal S.I., Trifonova I.S. 2011. Centric diatoms (*Centrophyceae*, *Bacillariophyta*) in plankton of the Neva Bay of the Gulf of Finland. *Algologia*. 21(1): 106–110. [Генкал С.И., Трифонова И.С. 2011. Центрические диатомовые водоросли (*Centrophyceae*, *Bacillariophyta*) планктона Невской губы Финского залива (Россия). *Альгология*. 21(1): 106–110].
- Genkal S.I., Trifonova I.S. 2020. Morphology and taxonomy of *Aulacoseira muzzanensis* (Bacillariophyta). *Novosti Syst. Nizsch. Rast.* 54(2): 355–369. [Генкал С.И., Трифонова И.С. Морфология и таксономия *Aulacoseira muzzanensis* (Bacillariophyta). *Новости сист. низш. раст.* 54(2): 355–369.
- Genkal S.I., Kulikovskiy M.S., Kuznetsova I.V. 2020. *The recent freshwater centric diatoms of Russia*. Yaroslavl. 433 p. [Генкал С.И., Куликовский М.С., Кузнецова И.В. 2020. Современные пресноводные центрические Bacillariophyta России. Ярославль. 433 p.].
- Houk V., Klee R., Tanaka H. 2010. Atlas of freshwater centric diatoms with a brief key and descriptions. Pt III. *Stephanodiscaceae*. A. *Cyclotella*, *Tertiarius*, *Discostella*. *Fottea* 10(Suppl.): 1–498.
- Houk V., Klee R., Tanaka H. 2014. Atlas of freshwater centric diatoms with a brief key and descriptions. Pt IV. *Stephanodiscaceae*. B. *Stephanodiscus*, *Cyclostephanos*, *Pliocaenicus*, *Hemistephanos*, *Stephanocostis*, *Mesodictyon* & *Spaticribra*. *Fottea* 14(Suppl.): 1–532.
- Houk V., Klee R., Tanaka H. 2017. Atlas of freshwater centric diatoms with a brief key and descriptions. Second emended edition of Part I and II. *Melosiraceae*, *Orthoseraceae*, *Paraliaceae* and *Aulacoseiraceae*. *Fottea*. 17(Suppl.): 1–616.
- Kiselev I.A. 1924. In: *Study of the Neva River and its Basin*. Leningrad: Nauka. Issue 2. Pp. 3–54. [Киселев И.А. 1924. Фитопланктон Невской губы и Финского залива. В кн.: *Изучение реки Невы и ее бассейна*. Вып. 2. Л.: Наука. С. 3–54].
- Kiseleva E.I. 1949. Study of phytoplankton in the southwestern part of the Neva Bay. *Uch. Zap. Leningrad. Univ. Ser. Biol.* 21(126): 142–177. [Киселева Е.И. 1949. Изучение фитопланктона юго-западной части Невской губы. *Уч. зап. Ленинград. ун-та. Сер. Биол.* 21(126): 142–177].
- Kiss K. T., Genkal S. I., Ector L., Molnar L., Duleba M., Biro P. 2013. Morphology, taxonomy and distribution of *Stephanodiscus triporus* (Bacillariophyceae) and related taxa. *Eur. J. Phycol.* 48(4): 363–379. <https://doi.org/10.1080/09670262.2013.843204>
- Krammer K., Lange-Bertalot H. 1991. *Bacillariophyceae* 3. Teil: *Centrales*, *Fragilariaceae*, *Eunotiaceae*. *Süßwasserflora von Mitteleuropa*. Stuttgart, Jena. 2/3: 1–576.
- Kulikovskiy M.S., Glushchenko A.M., Genkal S.I., Kuznetsova I.V. 2016. *Identification book of diatoms from Russia*. Yaroslavl: Filigran. 804 p. [Куликовский М.С., Глущенко А.М., Генкал С.И., Кузнецова И.В. 2016. *Определитель диатомовых водорослей России*. Ярославль: Филигрань. 804 с.].
- Lange L.K. 2006. In: *Ecological aspects of the impact of hydroelectric construction on the biota of the eastern part of the Gulf of Finland*. Collected scientific works of GosNIORKh. 1(331): Pp.146–177. [Ланге Л.К. 2006. Анализ структурных показателей позднелетнего

- фитопланктона Невской губы за 90-летний период. В кн.: *Экологические аспекты воздействия строительства гидроэлектростанций на биоту акватории восточной части Финского залива*. Тр. ГосНИОРХ. 1(331): 146–177].
- Nikulina V.N. 1987. In: *Nevskaya Guba: hydrobiological research*. Leningrad: Nauka. Pp. 20–29. [Никулина В.Н. 1987. Динамика численности и биомассы фитопланктона. В кн.: *Невская губа: гидробиологические исследования*. Л.: Наука. С. 20–29].
- Tuji A., Houki A. 2004. Taxonomy, Ultrastructure, and Biogeography of the *Aulacoseira subarctica* Species Complex. *Bull. Nat. Sci. Mus. Tokyo*. Ser. B. 30(2): 35–54.

Підписав до друку С.Ф. Комулайнен

Genkal S.I.¹, Trifonova I.S.² 2021. **New data on the flora of *Centrophyceae* (*Bacillariophyta*) in the Neva Bay of the Gulf of Finland (Russia)**. *Algologia*. 31(4): 382–389

¹Papanin Institute for Biology of Inland Waters RAS,
Settle Borok, Nekouz District, Yaroslavl Region 152742, Russia

²Institute of Limnology of RAS,
9 Sevastyanova Str., St.-Petersburg 196185, Russia

This scanning electron microscopy study of phytoplankton from the Neva Bay and analysis of valve images from S.I. Genkal's iconotheka have provided new data on centric diatoms of the Neva Bay. Representatives of the genera *Aulacoseira scalaris* and *Stephanodiscus lacustris*, new to the flora of the Bay, have been identified. The systematic position and distribution of 14 species and varieties of *Centrophyceae* from the genera *Aulacoseira*, *Conticribra*, *Cyclostephanos*, *Ellerbeckia*, *Handmannia*, *Pantocsekiella*, *Stephanodiscus*, *Thalassiosira* have been refined and specified. The species composition of the class *Centrophyceae* of the Neva Bay has been expanded. Now it includes 42 species and varieties from 17 genera.

K e w o r d s : Neva Bay of the Gulf of Finland, *Bacillariophyta*, *Centrophyceae*, morphology, scanning electron microscopy, *Aulacoseira scalaris*, *Stephanodiscus lacustris*

Штами колекції мікроводоростей IBASU-A – об'єкти біотехнології

Борисова О.В., Царенко П.М.

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

Надійшла до редакції 27.10.2021. Після доопрацювання 03.11. 2021. Підписана до друку 23.11.2021.
Опублікована 22.12.2021

Реферат. Наведено відомості про колекцію штамів біотехнологічного застосування, яка є складовою частиною колекції культур мікроводоростей Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України (IBASU-A). Основу її фонду складають штами зелених водоростей, що належать до родин *Dunaliellaceae*, *Chlorellaceae*, *Scenedesmaceae* та *Selenastraceae*. Вони ізольовані з різних регіонів України з метою пошуку штамів фототрофних мікроорганізмів, перспективних для біотехнології, зокрема одержання біологічно активних добавок для потреб харчової промисловості, медицини, сільського господарства і сировини для виробництва біопалива, а також проведення біоіндикації, біомоніторингу, біоремедіації водних об'єктів, оточуючого середовища тощо. Загалом у колекції IBASU-A представлено 90 штамів галофільних та прісноводних мікроводоростей 30 видів, 15 родів, 7 родин, 4 порядків, 2 класів. Усі вони розглядаються як важливі об'єкти для промислового культивування та вирішення екологічних проблем і є базою для подальших біотехнологічних досліджень.

К л ю ч о в і с л о в а : колекція IBASU-A, мікроводорості, штами, біотехнологія, біопаливо, біоремедіація, бактеріальні консорти

Якість фондів біологічних колекцій визначається кількістю та різноманітністю одиниць зберігання. Фонди колекції культур мікроводоростей Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України IBASU-A, яка має статус об'єкта національного надбання України, включають 500 штамів представників відділів *Chlorophyta* (457), *Cyanoprokaryota* (10), *Euglenophyta* (4), *Eustigmatophyta* (1), *Xanthophyta* (1), *Rhodophyta* (1) та *Charophyta* (18 штамів). Загалом IBASU-A складається з 7 окремих колек-

цій і нараховує 1250 одиниць зберігання (далі о.з.): культури галофільних (145) та прісноводних (680) водоростей, штами біотехнологічного застосування (90), рідкісні види (30), автентичні штами (20), мутанти (15) та бактеріальні консорти водоростей (270 о.з.) (Borisova, Tsarenko, 2004; Borysova et al., 2016).

У 60–70-х рр. минулого століття в Україні та за її межами активно розпочалися дослідження, спрямовані на пошук високопродуктивних видів і штамів, необхідних для ефективного розвитку основних напрямків біотехнологічної індустрії мікроводоростей, зокрема виробництва біологічно активних добавок в харчовій промисловості, сировини для фармацевтичної та парфумерної промисловості, розробки високоякісних кормів і добрив для потреб сільського господарства, очистки промислових та побутових стічних вод тощо. У той час у відділі альгології і ліхенології (нині відділ фікології, ліхенології та бріології) Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України професором Н.П. Масюк були введені в культуру і всебічно вивчені представники галофільних водоростей роду *Dunaliella* Teodor. На підґрунті проведених досліджень було розглянуто перспективи їх практичного застосування і рекомендовано широкомасштабне культивування штамів *Dunaliella salina* (Dunal) Teodor. з метою одержання β -каротину для тваринництва, харчової промисловості та медицини і штамів *Dunaliella viridis* Teodor. в якості поживних кормів для риборозведення (Massjuk, 1973; Borowitzka, Borowitzka, 1988). Водночас професором Г.М. Паламар-Мордвинцевою зі співробітниками проводилися дослідження щодо використання штамів прісноводних водоростей родів *Chlorella* Beijer. s.l., *Scenedesmus* Meyen s.l. та *Ankistrodesmus* Corda, ізольованих із водойм Київської та Чернігівської областей, для очистки стічних вод штучного волокна та шерстемийок (Kondratyeva et al., 2010). У 1980-х рр. Л.Й. Леновою та В.В. Ступіною виконано значний обсяг науково-дослідних робіт з вивчення ростових характеристик та кінетичних параметрів штамів галофільних водоростей *Dunaliella* як потенційних об'єктів різних штучних екологічних систем (Lenova et al., 1987) і деяких видів прісноводних водоростей, введених у культуру для вирішення проблем утилізації промислових відходів та інтенсифікації очистки стічних вод (Lenova, Stupina, 1990).

Таким чином, було закладено підґрунтя колекції культур мікроводоростей біотехнологічного напрямку IBASU-A, що включала штами-гіперпродуценти біомаси як джерела білків, жирів, вуглеводів, вітамінів та інших біологічно цінних речовини та ізольовані з промислових стічних вод штами, перспективні для проведення біотестування, біоіндикації й розробки технологій біоремедіації. Загалом вона налічувала 35 штамів зелених водоростей з родів *Dunaliella*, *Chlorella* s.l. та *Scenedesmus* s.l., представники яких і нині вважаються найбільш економічно рентабель-

ними. Вони вивчаються і широко використовуються для нарощування біомаси в промислових масштабах у різних країнах світу (США, Німеччина, Китай, Ізраїль, Малайзія, Японія, Австралія та ін.) (Spolaore et al., 2006; Mata et al., 2010; Wu et al., 2017; Kumar et al., 2020; Wolf et al., 2021).

Незважаючи на те, що у 1990–2000-х рр. штами біотехнологічної колекції деякий час не використовувалися у зв'язку зі зміною наукової тематики відділу, їх кількість постійно зростала завдяки регулярному поповненню фондів IBASU-A новими ізолятами зелених кокоїдних водоростей родин *Chlorellaceae*, *Scenedesmaceae* та *Selenastraceae* з різних регіонів України. Упродовж цього періоду значна частина регіональних штамів була ізольована з альгопроб, зібраних із водойм Українських Карпат, Українського Полісся, лісостепової та степової зони України і Кримського півострова. Проводилася робота щодо таксономічного опрацювання та ідентифікації культур, вивчення їх фізіолого-біохімічних властивостей, розробки методів культивування та збереження тощо.

Одним з пріоритетних напрямів практичного використання водоростей сьогодення є пошук видів-продуцентів ліпідів як поновлюваної сировини для виробництва біопалива, зокрема біодизеля. Необхідність впровадження технологій виробництва та використання біопалива в енергоємних галузях промисловості, комунальній енергетиці та транспорті обумовлена загрозою вичерпання викопних видів палива, зростанням цін на традиційні енергоносії, збільшенням забруднення навколишнього середовища тощо. Тому потенційно висока продуктивність окремих видів мікроводоростей, швидке накопичення біомаси та значний вміст ліпідної фракції привернуло до них увагу дослідників і промисловців як до альтернативного джерела для виробництва біопаливної сировини (Tsarenko et al., 2016).

Протягом останнього десятиріччя в Україні в рамках комплексних програм наукових досліджень НАН України проводилося всебічне вивчення енергоємних, екологічних та природо-економічних рослинних об'єктів, зокрема пошук перспективних видів мікроводоростей – гіперпродуцентів біомаси. Насамперед до цих досліджень було залучено штами колекції біотехнологічного застосування. Надалі проведено скринінг колекції IBASU-A і відібрано 33 штами 18 видів родів *Botryococcus*, *Chlorella*, *Chloroidium*, *Desmodesmus*, *Enallax*, *Euglena*, *Monoraphidium*, *Parachlorella* та *Tetradismus* за такими критеріями, як інтенсивність росту, висока продуктивність, здатність до накопичення ліпідів, стійкість до стресових чинників і біологічної контамінації. Серед них визначено 7 штамів, перспективних для біоенергетики, а саме: *Tetradismus* (= *Acutodesmus*) *dimorphus* (Turpin) M.J.Wynne 251, 254, *Desmodesmus magnus* (Meyen) P.Tsarenko 401, *D. multivariabilis* var. *turskensis* P.Tsarenko et E.Hegew. 398, *Chlorella vulgaris* Beijer. 189, 192,

Parachlorella kessleri (Fott et Nováková) Krienitz et al. 444 (Tsarenko et al., 2011, 2016).

Значна кількість перспективних вітчизняних штамів, адаптованих до кліматичних умов помірної зони, була цілеспрямовано ізолювана у 2012–2021 рр. Альгологічно чисті культури мікроводоростей одержували традиційними методами, а саме шляхом розсіву альгологічного матеріалу на агаризованих живильних середовищах або капілярним методом (Algal..., 2005). Вихідним матеріалом слугували альгопроби, зібрані у водоймах або водотоках різного типу, іноді вижимки з водних судинних рослин. Зразки, відібрані під час «цвітіння» водойм, використовувалися безпосередньо, з інших формували нагромаджувальні культури. Останні розсівали за допомогою скляного шпателя на поверхні агаризованих середовищ Болда (3N BBM) (Bischoff, Bold, 1963) і Бурреллі (Soeder, Hegewald, 1988) у чашках Петрі, які поміщали на освітлювальну установку до появи чітко сформованих колоній водоростей. Вже на цьому етапі проводили селекційну роботу, ізолюючи активно зростаючі колонії. Окремі колонії пересівали в пробірки з відповідним рідким живильним середовищем, вирощували до яскраво-зеленої суспензії, перевіряли на чистоту за допомогою світлового мікроскопа. Альгологічно чисті культури висівали на середовище ФДГА (Kvitko et al., 1983) для перевірки наявності грибів та бактерій, а також здатності штамів до росту в присутності органічних речовин. Для введення в культуру видів родин *Chlorellaceae*, *Scenedesmeaceae* та *Selenastraceae* більш результативним виявився метод розсіву на агарі та середовище Бурреллі з концентрацією KNO_3 200 мг/л. Проте для одержання культур видів *Botryococcus* та *Haematococcus* кращим виявився метод ізоляції окремих клітин за допомогою мікропіпеток безпосередньо з альгопроб, які відбирали під час «цвітіння» водойм, і середовище 3N BBM з концентрацією NaNO_3 750 мг/л.

Вивчали також культурально-морфологічні та фізіолого-біохімічні властивості ізолюваних культур зі стабільним ростом, визначали оптимальні умови культивування і за показниками активності росту та накопичення біомаси відбирали більш продуктивні штами для оцінки їхнього біотехнологічного потенціалу.

На сьогодні біотехнологічна колекція містить 90 штамів галофільних і прісноводних водоростей 30 видів, 15 родів, 7 родин, 4 порядків, 2 класів. Більшість з них є оригінальними, ізолюваними з різних біотопів Волинської, Запорізької, Закарпатської, Житомирської, Київської, Одеської, Рівненської, Харківської, Херсонської, Черкаської та Чернігівської областей України, і лише близько 15% отримані з колекцій зарубіжних установ. Основні напрями досліджень спрямовані на пошук перспективних фототрофних мікроорганізмів, що мають біотехнологічне значення,

вивчення активності їхнього росту та біологічних особливостей, та розробку методів культивування й збереження.

Нижче наводимо коротку характеристику штамів колекції біотехнологічного застосування, яка включає культури галофільних і прісноводних водоростей різних видів (табл. 1, 2).

Таблиця 1. Штами колекції IBASU-A – об'єкти біотехнології

№ п/п	Вид	Штам	Таксономія	Походження	Галузь використання
1, 2	<i>Asteromonas gracilis</i> Artari	65, 66	<i>Chlorophyta, Chlorophyceae, Chlamydomonadales, Asteromonadaceae</i>	Україна, Херсонська обл.	Аквакультура
3–12	<i>Botryococcus braunii</i> Kütz.	426–429, 432, 433, 434, 435, 437	<i>Chlorophyta, Trebouxiophyceae Trebouxiales, Botryococcaceae</i>	Україна, Волинська, Закарпатська, Київська, Житомирська, Чернігівська обл.	Біоенергетика
13	<i>B. terribilis</i> Komárek et Marvan	442	<i>Chlorophyta, Trebouxiophyceae, Trebouxiales, Botryococcaceae</i>	Україна, Житомирська обл.	Біоенергетика
14–25	<i>Chlorella vulgaris</i> Beijer.	189–192, 326; 452, 472; 715–718	<i>Chlorophyta, Trebouxiophyceae, Chlorellales, Chlorellaceae</i>	РФ, Кавказ; Чукотський п-ів, Магаданська обл.; Україна, Київська, Харківська обл.	Харчова, фармацевтична промисловість, медицина, тваринництво, сільське господарство, біоенергетика, біоіндикація, біоремедіація
26–27	<i>Chloroidium saccharophilum</i> (W.Krüger) Darienko et al.	187, 481	<i>Chlorophyta, Trebouxiophyceae, Chlorellales, Chlorellaceae</i>	Україна, Київська обл.	Біоенергетика, біоіндикація, біоремедіація
28	<i>Coelastrella</i> sp.	528	<i>Chlorophyta, Chlorophyceae, Sphaeropleales, Scenedesmaceae</i>	Україна, Хмельницька обл.	Біоенергетика
29	<i>Coelastrella vacuolata</i> (Shih. et W.R.Krauss) E.Hegew. et N.Hanagata	519	<i>Chlorophyta, Chlorophyceae, Sphaeropleales, Scenedesmaceae</i>	Україна, Київська обл.	Біоенергетика
30–32	<i>Desmodesmus armatus</i> (Chodat) E.Hegew.	263, 270, 337	<i>Chlorophyta, Chlorophyceae Sphaeropleales, Scenedesmaceae</i>	Україна, Київська обл.	Біоенергетика
33	<i>Desmodesmus curvatocornis</i> (Proschk. -Lavr.) E.Hegew.	384	<i>Chlorophyta, Chlorophyceae Sphaeropleales, Scenedesmaceae</i>	Україна, Волинська обл.	Біоенергетика
34	<i>D. lunatus</i> (W. et G.S.West) E.Hegew.	341	<i>Chlorophyta, Chlorophyceae, Sphaeropleales, Scenedesmaceae</i>	Куба	Біоенергетика, біоіндикація, біоремедіація
35–36	<i>Desmodesmus magnus</i> (Meyen) P.Tsarenko	401–402	<i>Chlorophyta, Chlorophyceae, Sphaeropleales, Scenedesmaceae</i>	РФ, о. Сахалін	Біоенергетика

37	<i>Desmodesmus multivariabilis</i> var. <i>turskensis</i> P.Tsarenko et E.Hegew.	398	<i>Chlorophyta, Chlorophyceae, Sphaeropleales, Scenedesmaceae</i>	Україна, Волинська обл.	Біоенергетика
38	<i>D. pannonicus</i> (Hortob.) E.Hegew.	381	<i>Chlorophyta, Chlorophyceae, Sphaeropleales, Scenedesmaceae</i>	Німеччина, м. Дюрен	Біоенергетика
39	<i>D. subspicatus</i> (Chodat) E.Hegew.	408, 701	<i>Chlorophyta, Chlorophyceae, Sphaeropleales, Scenedesmaceae</i>	Україна, Закарпатська, Харківська обл.	Біоенергетика
40–52	<i>Dunaliella salina</i> (Dunal) Teodor.	2–4, 6, 10–12, 16, 20, 706–708	<i>Chlorophyta, Chlorophyceae, Chlamydomonadales, Dunaliellaceae</i>	Україна, Кримська, Одеська, Херсонська обл.	Харчова, фармацевтична промисловість, медицина, тваринництво, біоенергетика
53–56	<i>D. viridis</i> Teodor.	22, 24, 42, 56	<i>Chlorophyta, Chlorophyceae, Chlamydomonadales, Dunaliellaceae</i>	Україна, Кримська, Одеська, Херсонська обл.	Біоенергетика, аквакультура, рибиництво
57–60	<i>Haematococcus lacustris</i> (Gir.-Chanttr.) Rostafinski	219, 461, 462, 464	<i>Chlorophyta, Chlorophyceae, Chlamydomonadales, Haematococcaceae</i>	Україна, Запорізька, Кримська, Херсонська обл.	Харчова, промисловість, біоенергетика
61–64	<i>Messastrum gracile</i> (Reinsch) Garcia	316–318, 580	<i>Chlorophyta, Chlorophyceae, Sphaeropleales, Selenastraceae</i>	Німеччина, Мекленбург–Передня Померанія; Україна, Київська обл.	Біоенергетика
65	<i>Monoraphidium contortum</i> Komárk.-Legn.	365	<i>Chlorophyta, Chlorophyceae, Sphaeropleales, Selenastraceae</i>	Україна, Донецька обл.	Біоенергетика
66–67	<i>Monoraphidium griffithii</i> (Berk.) Komárk.-Legn.	493, 494	<i>Chlorophyta, Chlorophyceae, Sphaeropleales, Selenastraceae</i>	Україна, Київська обл.	Біоенергетика, біоремедіація
68	<i>M. saxatile</i> Komárk.-Legn.	364	<i>Chlorophyta, Chlorophyceae, Sphaeropleales, Selenastraceae</i>	Україна, Волинська обл.	Біоенергетика
69–74	<i>Monoraphidium</i> sp.	166; 378, 379, 752–754	<i>Chlorophyta, Chlorophyceae, Sphaeropleales, Selenastraceae</i>	Чехія; Україна, Київська обл.	Харчова, фармацевтична промисловість, медицина, біоенергетика
75	<i>Oocystis</i> sp.	422	<i>Chlorophyta, Trebouxiophyceae, Chlorellales, Oocystaceae</i>	Латвія	Біоенергетика
76–80	<i>Parachlorella kessleri</i> (Fott et Nováková) Krienitz et al.	197–200, 444	<i>Chlorophyta, Trebouxiophyceae, Chlorellales, Chlorellaceae</i>	США, Пенсільванія, м. Філідельфія; РФ, м. Санкт-Петербург	Харчова та фармацевтична промисловість, біоенергетика, біоремедіація
81–83	<i>Raphidocelis subcapitata</i> (Korschikov) Nygaard et al.	358, 360, 363	<i>Chlorophyta, Chlorophyceae, Sphaeropleales, Selenastraceae</i>	Україна, Волинська, Донецька обл.	Біоенергетика
84–85	<i>Scenedesmus ellipticus</i> Corda	516, 579	<i>Chlorophyta, Chlorophyceae, Sphaeropleales, Scenedesmaceae</i>	Україна, Київська, Черкаська обл.	Біоенергетика

86–87	<i>Scenedesmus obtusus</i> Meyen	245, 468	<i>Chlorophyta, Chlorophyceae, Sphaeropleales, Scenedesmaceae</i>	Україна, Київська, Хмельницька обл.	Біоенергетика
88	<i>Tetrademus lagerheimii</i> M.J.Wynne et Guiry	543	<i>Chlorophyta, Chlorophyceae, Sphaeropleales, Scenedesmaceae</i>	Україна, Київська обл.	Біоенергетика, біоремедіація
89	<i>T. dimorphus</i> (Turpin) M.J.Wynne	251–254, 704, 344	<i>Chlorophyta, Chlorophyceae, Sphaeropleales, Scenedesmaceae</i>	Україна, Київська, Харківська обл.; Куба	Харчова промисловість, тваринництво, сільське господарство біоенергетика, біоіндикація, біоремедіація
90	<i>T. obliquus</i> (Turpin) M.J.Wynne	473	<i>Chlorophyta, Chlorophyceae, Sphaeropleales, Scenedesmaceae</i>	Україна, Київська обл.	Біоенергетика

Таблиця 2. Штами колекції IBASU-A – високопродуктивні продуценти біологічно цінних речовин, БЦР (за даними Tsarenko et al., 2011, 2016)

Вид	Штам	Умови культивування			Питома швидкість росту, доба ⁻¹	Продуктивність, г л ⁻¹ за добу ⁻¹	БЦР
		Живильне середовище	pH	T, °C			
<i>Botryococcus braunii</i> Kütz.	504	Чу-13	8,5–9	26–30	0,74	1,3	Ліпіди
<i>Chlorella vulgaris</i> Beijer.	189–192, 326; 452	Тамія	6,5–8,5	26–30	0,39–1,2	0,5–1,6	Білки, ліпіди
<i>C. vulgaris</i>	715–717*	Тамія	6,5–8,5	26–30	0,55–0,82	0,72–1,06	Білки, ліпіди
<i>Chloroidium saccharophilum</i> (W.Krüger) Darienko et al.	186, 187	Тамія	6,5–8,5	30–32	0,4–0,72	0,48–0,86	Білки, ліпіди
<i>Coelastrella</i> sp.	519*, 528*	Болда (3N ВВМ)	6,5–8,5	26–30	0,62–0,82	0,75–0,95	Ліпіди
<i>Desmodesmus armatus</i> (Chodat) E.Hegew.	263*, 270, 337*	Бурреллі	6,5–8,5	26–30	0,40–0,42	0,39–0,54	Ліпіди
<i>D. lunatus</i> (W. et G.S. West) E. Hegew	341	Бурреллі	6,5–8,5	26–30	0,46	0,44	Ліпіди
<i>D. magnus</i> (Meyen) P.Tsarenko	401–402	Бурреллі	6,5–8,5	26–30	0,94	0,98–1,2	Білки, ліпіди
<i>D. multivariabilis</i> var. <i>turskensis</i> P.Tsarenko et E.Hegew.	398	Бурреллі	6,5–8,5	26–30	0,48	0,58	Ліпіди

<i>Desmodesmus subspicatus</i> (Chodat) E.Hegew.	408, 701*	Бурреллі	6,5–8,5	26–30	0,42–0,54	0,36–0,42	Ліпіди
<i>Enalax costatus</i> (Schmidle) Pascher	342	Бурреллі	6,5–8,5	26–30	0,4	0,72	Білки, ліпіди
<i>Messastrum gracile</i> (Reinsch) Garcia	316, 317, 580	Болда (3N BBM)	6,5–8,5	26–30	0,38–0,40	0,5–0,68	Ліпіди
<i>Monoraphidium</i> sp.	377, 379, 572–574	Болда (3N BBM)	6,5–8,5	28–32	1,01–1,2	0,84–1,84	Білки, ліпіди
<i>Parachlorella kessleri</i> (Fott et Nováková) Krienitz et al.	197–200, 444	Тамія	6,5–8,5	30–32	0,45–0,95	0,55–0,95	Білки, ліпіди
<i>Raphidocelis subcapitata</i> (Korschikov) Nygaard et al.	358, 360, 363	Болда (3N BBM)	6,5–8,5	30–32	1,01–1,04	1,3–21,48	Ліпіди
<i>Scenedesmus ellipticus</i> Corda	516*	Бурреллі	6,5–8,5	26–30	0.52	0,76	Ліпіди
<i>Tetradismus lagerheimii</i> M.J. Wynne et Guiry	543*	Бурреллі	6,5–8,5	26–30	0.48	0,94	Ліпіди
<i>T. dimorphus</i> (Turpin) M.J.Wynne	251, 254, 344, 704*	Бурреллі	6,5–8,5	26–30	0.38–0.46	0,40–1,2	Білки, ліпіди
<i>T. obliquus</i> (Turpin) M.J.Wynne	473	Бурреллі	6,5–8,5	26–30	0.32	0,34	Ліпіди

* – Оригінальні дані.

У колекції галофільні водорості представлені 16 штамами двох видів роду *Dunaliella* (клас *Chlorophyceae*, порядок *Chlamydomonadales*): *D. salina* – 12 та *D. viridis* – 4 штами. Це одноклітинні рухливі водорості з двома джгутиками однакової довжини, гладенькою поверхнею клітини. Целюлозна оболонка відсутня. Нестатеве розмноження відбувається шляхом поздовжнього ділення клітини в рухливому або пальмелевидному стані, статевий процес – оогамія. В Україні відомі лише гіпергалобні види (Lilitska, 2019).

Клітини *D. salina* широкоеліпсоїдні до майже кулястих, циліндричні, яйцеподібні, грушоподібні, заокруглені ззаду та спереду, зазвичай правильної симетричної форми. Стилгма одна, блідо-рожева, дифузна, невиразна, у передній частині клітини. Розмір клітин 6–29 мкм завд., 4–20 мкм завш. Цей космополітний вид мешкає переважно в солоних озерах

та на солепромислах з концентрацією від 3% NaCl до насичення (оптимум солоності 6–12% NaCl). Характеризується накопиченням переважно β -каротину в екстремальних умовах, внаслідок чого вегетативні клітини набувають жовтого, червоного або бурого кольору. Збудник червоного «цвітіння» ропи солоних озер влітку. Колекційні штами-гіперпродуценти β -каротину ізольовані з лиманів, солоних озер і штучних водойм солепромислів Кримської, Запорізької, Одеської та Херсонської областей України (див. табл. 1).

Клітини *D. viridis* значно менші за розміром, ніж *D. salina*, 3–18 мкм завд., 2–15 мкм завш., грушоподібні, овальні, еліпсоїдні, яйцеподібні, веретеноподібні, циліндричні. Стигма одна, іноді дві, еліпсоїдна, видовжена, паличкоподібна або овальна, червона, дуже виражена. Гіпергалоб, але оптимум солоності нижче 6–8% NaCl. Не накопичує β -каротин в екстремальних умовах. Збудник зеленого «цвітіння» ропи солоних озер влітку. Характеризується дуже високим темпом розмноження, що визначило перспективність штамів *D. viridis* для виборозведення в якості поживних живих кормів (Massjuk, 1973).

Штами відомого продуцента β -каротину *Asteromonas gracilis* (клас *Chlorophyceae*, порядок *Chlamydomonadales*) (Fawzy et al., 2014) включені до колекції біотехнологічних штамів як модельні об'єкти для майбутніх досліджень синтезу загальних ліпідів та каротиноїдів.

Одним з важливих завдань біотехнології є керований біосинтез мікроводоростями низки нетоксичних пігментів рослинного походження, а саме хлорофілів, каротиноїдів, ксантофілів тощо. Тому перспективними об'єктами у цьому напрямку окрім видів *Dunaliella* розглядаються колекційні штами прісноводного гіперпродуцента астаксантину *Haematococcus lacustris* (Gir.-Chantr.) Rostafinski (= *Haematococcus pluvialis* Flot.) (клас *Chlorophyceae*, порядок *Chlamydomonadales*), ізольованих з водойм Чехії, Центрального Кавказу, Кримського п-ва та території м. Києва (див. табл. 1). Як джерело астаксантину *H. lacustris* є одним з нечисленних видів-продуцентів комерційно успішних продуктів, що використовуються для потреб харчової промисловості, медицини та аквакультури (Apt, Behrens, 1999).

Прісноводні зелені водорості представлені 72 штамами 27 видів, 13 родів, 5 родин, 4 порядків, 2 класів, що розглядаються як об'єкти промислового культивування та вирішення екологічних проблем і є базою для подальших біотехнологічних досліджень. Серед них є штами видів-продуцентів біомаси, яка містить білки, амінокислоти, каротиноїди, вітаміни А, В₁, В₆, В₁₂, С, D, ліпіди, незамінні поліненасичені жирні кислоти (омега-3, омега-6) та інші біологічно активні речовини. В основному це представники родин *Chlorellaceae* (*Chlorella* Beijer., *Chloroidium* Hadson, *Parachlorella* Krienitz et al.) та *Scenedesmaceae*

(*Scenedesmus* Meyen, *Tetradismus* G.M. Smith), які мають важливе практичне значення для промислового виробництва біомаси і використання її в різних галузях харчової промисловості, медицини, сільського господарства, біоенергетики та біоремедіації (Muzafarov, Taubaev, 1984; Borowitzka, Borowitzka, 1988; Spolaore et al., 2006; Becker, 2007; Sorochinsky et al., 2010; Jacobs-Lopes et al., 2015 та ін.).

Прісноводні одноклітинні водорості родини *Chlorellaceae* (клас *Trebouxiophyceae*, порядок *Chlorellales*) мають сферичні або субсферичні клітини діаметром 2–12 мкм, зазвичай з піреноїдом, який облямований зернами крохмалю. Розмножуються автоспорами, що утворюються завжди у парній кількості й переважно одного розміру. Здатні споживати мінеральний азот у нітратній та амонійній формі. У колекції IBASU-A вони представлені аксенічними культурами повноцінних та мутантних штамів *C. vulgaris* і *Parachlorella kessleri* (= *Chlorella kessleri* Fott et Nováková), одержаних у 1970-х рр. із колекції Санкт-Петербурзького університету, РФ (CALU) як відомі гіперпродуценти біомаси, багаті на білки, вуглеводні, вітаміни, мікро- та макроелементи, а також низкою вітчизняних штамів *C. vulgaris*, ізольованих з території Київської, Черкаської та Харківської областей України у 2014–2020 рр., та виділені з експериментальних культиваторів штами *Chloroidium saccharophilum* (W.Krüger) Darienko et al., стійкі до високих концентрацій аніонних детергентів.

Деякі представники родини *Scenedesmaceae* (клас *Chlorophyceae*, порядок *Sphaeropleales*), а саме види роду *Tetradismus* (= *Acutodesmus* Meyen), є більш резистентними до різних токсичних компонентів стічних вод хімічної промисловості та виробництва мінеральних добрив, що важливо при застосуванні мікроводоростей у комплексних біотехнологіях очищення забруднених водних екосистем. Наразі в колекції підтримуються перспективні штами *Tetradismus lagerheimii* M.J.Wynne et Guiry, *T. dimorphus*, *T. obliquus* (Turpin) M.J.Wynne, *Desmodesmus communis* (E.Hegew.) E.Hegew. (= *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Bréb.), здатні витримувати або активно рости при надвисоких концентраціях нафти і деяких токсичних компонентів стічних вод, а саме: етилендіаміну, капролактаму, фенолів, канцерогенних нітрозамінів тощо (Lenova, Stupina, 1990). Такі біологічні особливості представників *Chlorellaceae* та *Scenedesmaceae* уможливають збільшення рентабельності водоростей-продуцентів сировини для біоенергетики за рахунок їх використання в процесах біологічної очистки вод різних промислових підприємств. Тому доцільно мати в колекції якомога більше ізолятів зі стічних вод, де вони домінують. Як приклад, колекційний штам 251 широко поширеного в Україні виду *Tetradismus dimorphus* (= *Scenedesmus acutus* Meyen, *Acutodesmus dimorphus* (Turpin) P.Tsarenko), ізольований у 1975 р. з біологічного ставка системи очисних споруд Черкаського промислового

об'єднання «Азот» (Україна), де він викликав «цвітіння» води. Використовувався в лабораторних дослідженнях щодо біологічного засобу очищення промислових стічних вод (Lenova, Stupina, 1990). На штам також одержано патент як біоресурсного продуцента (Tsarenko et al., 2014). У колекції він представлений у вигляді альгологічно чистої та аксенічної культур. Розмір клітин 6–25–27 мкм завд. та 2–14 мкм завш. Ценобії 2-, 4-, 8-клітинні. Може швидко переходити до одноклітинної стадії за умов інтенсивного культивування. Мезофіл здатний до міксотрофного росту. В альгологічно чистій культурі *T. dimorphus* виявлено сім видів бактеріальних консортів, типових для водоростей роду *Tetrademus*, а саме: *Acinetobacter* sp., *Curtobacterium* sp., *Flavobacterium* sp., *Microbacterium imperiale*, *Rhodococcus erythropolis* та *R. fasciens* (Borisova et al., 2000).

Відомо, що мікрowodорості, як і судинні рослини, синтезують запасуючі ліпіди з високим вмістом насичених і ненасичених жирних кислот, що вже широко застосовуються в медицині, фармацевтичній та харчовій промисловості. Індивідуальний вміст та склад ліпідів мікрowodоростей різних систематичних груп є дуже різноманітним, що необхідно враховувати при створенні штамів-продуцентів (Soroichinsky et al., 2010).

За літературними даними, привабливими для практичного використання як продуценти сировини для біоенергетики залишаються представники родин *Botryococcaceae*, *Chlorellaceae* та *Scenedesmaceae*. Проте останнім часом все більше увагу вчених та виробників привертають представники родини *Selenastraceae* (клас *Chlorophyceae*, порядок *Sphaeropleales*). Наразі більш дослідженими є види роду *Monoraphidium* Komark.-Legner. Деякі з них характеризуються високою активністю росту, здатністю накопичувати ліпіди та стійкістю до стресових чинників (Yu et al., 2012; Bogen et al., 2013; Patidar et al., 2014; Diaz et al., 2015; Shrivastav et al., 2015; Wu et al., 2015; Li et al., 2017; Kirpenko et al., 2021). Значно менше вивчені роди *Messastrum* (Reinsch) T.S.Garcia (= *Selenastrum* Reinsch) та *Raphidocelis* Hindák (Suzuki et al., 2018). У колекції культури цих родів представлені трьома штамми: *Messastrum gracile* – ізольовані з водойм Німеччини в 1995 р., *Monoraphidium* sp. – з водойм Волинської обл. у 2013 р. та Київської обл. у 2014 р., *Raphidocelis subcapitata* Hindák – з водойм Донецької обл. у 2000 р. Усі штами характеризуються активним ростом на простих мінеральних живильних середовищах, високою питомою швидкістю росту та продуктивністю (див. табл. 2). Найпродуктивнішими серед них є *Monoraphidium* sp. 377 та 574 і *Raphidocelis subcapitata* (Korschikov) Nygaard et al. 358 з приростом абсолютно сухої біомаси (а.с.б.) 0,84–1,84 г/л за добу. У порівнянні з представниками родин *Chlorellaceae* та *Scenedesmaceae* штами видів родини *Selenastraceae* відзначаються високим загальним вмістом ліпідів (табл. 3). А жирнокислотний склад їхніх

ліпідів характеризується наявністю таких насичених і ненасичених жирних кислот, як пальмітинова (C16:0), олеїнова (C18:1), лінолева (C18:2) та ліноленова (C18:3), що є сприятливим для виробництва біодизеля високої якості (Nascimento et al., 2013).

Таблиця 3. Штами колекції IBASU-A – перспективні продуценти біомаси як джерела сировини для біопалива (за даними Tsarenko et al., 2016, 2020)

Вид	Штам	Кількість ліпідів, %	Головні жирні кислоти
<i>Chlorella vulgaris</i> Beijer.	189	16,53 ± 0,7	C16:0 , C18:1, C18:2 , C18:3
<i>C. vulgaris</i> Beijer.	190	17,5 ± 1,2	C16:0 , C18:1, C18:2 , C18:3
<i>Parachlorella kessleri</i> (Fott et Nováková) Krienitz et al.	444	10,53 ± 0,5	C16:0 , C18:1, C18:2 , C18:3
<i>Tetradismus dimorphus</i> (Turpin) M.J.Wynne	251	12,4 ± 2,5	C16:0, C18:1 , C18:2, C18:3
<i>T. dimorphus</i> (Turpin) M.J.Wynne	344	17,5 ± 3,8	C16:0, C18:1 , C18:2, C18:3
<i>Monoraphidium</i> sp.	377	29,43 ± 1,07	C16:0 , C18:1 , C18:2
<i>Monoraphidium</i> sp.	574	33,65 ± 0,7	C16:0 , C18:1 , C18:2 , C18:3
<i>Raphidocelis subcapitata</i> (Korschikov) Nygaard et al.	358	23,14 ± 1,25	C16:0, C18:1 , C18:2

Умовні позначення жирних кислот (ЖК): C16:0 – пальмітинова; C18:1 – олеїнова; C18:2 – лінолева; C18:3 – ліноленова. Жирним шрифтом виділені ЖК, частка яких становить більше 15%.

Як відомо, найвищий вміст ліпідів притаманний колоніальним водоростям, представникам роду *Botryococcus* (клас *Trebouxiophyceae*, порядок *Trebouxiales*, родина *Botryococcaceae*), здатним накопичувати понад 70% рідких вуглеводнів сухої речовини (Zolotaryova et al., 2008). В Україні види *Botryococcus* широко поширені у водоймах Полісся та Лісостепу, де часто викликають «цвітіння» води. Вони утворюють вільно плаваючі колонії діаметром 100–500 мкм, з характерною ботриїдною організацією клітин, поєднаних променезаломним матриксом, що містить ліпіди. Колонії багатоклітинні жовтувато-зеленого до червонувато-бурого кольору. Клітини овальні, 5,7–12 мкм завд., (2,5)3–7,5 мкм завш., мають пластинчастий хлоропласт, розташовані майже радіально. Розмножуються автоспорами.

Колекційні штами *Botryococcus braunii* Kütz. ізольовані з водойм Волинської, Київської, Закарпатської, Житомирської та Чернігівської областей у 2008–2013 рр., *B. terribilis* Komárek et Marvan – з водойми Житомирської обл. у 2013 р. (Borysova et al., 2014).

Культури розглянутих вище штамів колекції IBASU-A – альгологічно чисті або аксенічні. Деякі з них зберігаються водночас у вигляді альгологічно чистих та аксенічних культур. Вони підтримуються у вегетативно активному стані в скляних 250 мл колбах і пробірках об'ємом 20 мл на рідких та агаризованих живильних середовищах різного мінерального складу: галофільні (*Asteromonas*, *Dunaliella*) – на Артарі з 12% NaCl, прісноводні (*Botryococcus*, *Chlorella*, *Chloroidium*, *Desmodesmus*, *Enallax*, *Haematococcus*, *Messastrum*, *Monoraphidium*, *Parachlorella*, *Raphidocelis*, *Scenedesmus*, *Tetradismus*) – на Бурреллі, Тамія, Чу № 13. Пересіви здійснюються кожні 2–4 місяці залежно від таксономічної приналежності водоростей. Після посіву на свіжі живильні середовища культури вирощуються декілька діб за оптимальних умов культивування на люміностації. Надалі вони зберігаються у холодильнику без освітлення або в кімнаті з природним освітленням за температури 4 та 20–24 °C відповідно. Бактеріальні консорти зберігаються на стандартному середовищі для бактерій, що містить гідролізат кільки і пептон, за температури 4–10 °C (Borysova et al., 2014).

Таким чином, фонд колекції штамів біотехнологічного застосування може слугувати підґрунтям для швидкого та своєчасного використання перспективних високопродуктивних штамів при розробці нових технологій у різних галузях промисловості, сільського господарства, біоенергетики, біоремедіації та екологічної біотехнології. Надалі планується удосконалення методів отримання чистих культур та зберігання видів з ресурсними властивостями – продуцентів біомаси, ліпідів, біологічно активних речовин, а також продовження вивчення їхніх фізіолого-біохімічних властивостей.

Список літератури

- Algal culturing techniques*. 2005. Ed. R.A. Andersen. Amsterdam: Elsevier Acad. Press. 578 p.
- Apt K.E., Behrens P.W. 1999. Commercial developments in microalgal biotechnology. *J. Phycol.* 35: 215–226.
- Becker E.W. 2007. Microalgae as a source of protein. *Biotechnol. Adv.* 25: 207–210.
- 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.
- Bogen C., Klassen V., Wichmann J., La Russa M., Doebbe A., Grundmann M., Uronen P., Kruse O., Mussgnug J.H. 2013. Identification of *Monoraphidium contortum* as a promising species for liquid biofuel production. *Biores. Technol.* 133: 622–626.
- Borisova E.V., Tsarenko P.M. 2004. Microalgae Culture Collection of Ukraine (IBASU-A). *Nova Hedw.* 79(1–2): 127–134.
- 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.

- Borowitzka M.A., Borowitzka L.J. 1988. *Microalgal Biotechnology*. Cambridge: Cambridge Univ. Press. 477 p.
- Borysova O.V., Tsarenko P.M., Konishchuk M.O. 2014. *Microalgae Culture Collection IBASU-A*. Kyiv. 110 p. [Борисова О.В., Царенко П.М., Конішчук О.М. 2014. *Колекція культур мікрowodоростей IBASU-A*. Київ. 110 с.].
- Borysova O.V., Tsarenko P.M., Konishchuk M.O. 2016. Microalgae Culture Collection (IBASU-A) as an object of national heritage of Ukraine. *Ukr. Bot. J.* 73(5): 453–466. [Борисова О.В., Царенко П.М., Конішчук М.О. 2016. Колекція культур мікрowodоростей (IBASU-A) як об'єкт національного надбання України. *Укр. бот. журн.* 73(5): 453–466].
- Diaz G.C., Cruz Y.R., Carlis R.G., de Paula R.C.V., Aranda D.A.G., Dario M.A.G., Marassi G.S., Furtado N.C. 2015. Cultivation of microalgae *Monoraphidium* sp., in the plant pilot the Grant Valle Bio Energy, for biodiesel production. *Nat. Sci.* 7: 370–378.
- Fawzy M.A., Hifney A.F., Issa A.A., Adam M.S. 2014. *Asteromonas gracilis* (Prasinophyceae) as a model for production of carotene and total lipids. *J. Adv. Res. Appl. Sci.* 1(1): 51–62.
- Jacobs-Lopes E., Merinda L.G.R., Quelirouz M.I., Zepka L.Q. 2015. Microalgal Biorefineries. <https://doi.org/10.5772/59969>
- Kirpenko N.I., Tsarenko P.M., Usenko O.M., Leontieva T.O. 2021. Green microalgae *Monoraphidium* sp. HPDP-105 – producer of biomass with high lipid content. *Hydrobiol. J.* 57(4): 88–98. [Кірпенко Н.І., Царенко П.М., Усенко О.М., Леонтєва Т.О. 2021. Штам зеленої мікрowodорості *Monoraphidium* sp. HPDP-105 – продуцент біологічно цінних сполук. *Гідробіол. журн.* 57(4): 88–98].
- Kondratyeva N.V., Tsarenko P.M., Kislova O.A. 2010. *Algological studies in the M.G. Kholodny Institute of Botany NAS of Ukraine*. Kyiv. 144 p. [Кондратьєва Н.В., Царенко П.М., Кислова О.А. 2010. *Альгологічні дослідження в Інституті ботаніки ім. М.Г. Холодного*. Київ. 144 с.].
- Kvitko K.V., Borshchevskaya T.N., Chunaev A.S., Tugarinov V.V. 1983. In: *Cultivation of algal collection strain*. Leningrad: Leningrad State Univ. Publ. Pp. 28–56. [Квитко К.В., Борщевская Т.Н., Чунаев А.С., Тугаринов В.В. 1983. Петергофская коллекция штаммов водорослей. В кн.: *Культивирование коллекционных штаммов водорослей*. Л.: Изд-во ЛГУ. С. 28–56].
- Lenova L.I., Stupina V.V. 1990. *Use of algae in final sewage purification*. Kyiv: Nauk. Dumka. 180 p. [Лєнова Л.І., Ступина В.В. 1990. *Водоросли в доочистке сточных вод*. Киев: Наук. думка. 180 с.].
- Lenova L.I., Stupina V.V., Trenkinshu R.P. 1987. Comparative analysis of growth and productivity of certain halophilous algae in intensive cultivation. *Ukr. Bot. J.* 44(6): 54–57. [Лєнова Л.І., Ступина В.В., Тренкеншу Р.П. 1987. Порівняльний аналіз росту та продуктивності деяких галофільних водорослей в інтенсивній культурі. *Укр. бот. журн.* 44(6): 54–57].
- Li D., Zhao Y., Ding W., Zhao P., Xu J.-W., Li T., Ma H., Yu X. 2017. A strategy for promoting lipid production in green microalgae *Monoraphidium* sp. QLY-1 by combined melatonin and photoinduction. *Biores. Technol.* 23: 104–112.

- Lilitska G.G. 2019. *Identification manual of phytomonads algae of Ukraine*. Kyiv. 456 p. [Ліліцька Г.Г. 2019. Визначник фітомонадних водоростей України. Київ. 456 с.].
- Massjuk N.P. 1973. *Morphology, systematics, ecology, geographical distribution of the genus Dunaliella Teod. and perspectives of its applications*. Kyiv: Nauk. Dumka. 244 p. [Масюк Н.П. 1973. Морфология, систематика, экология, географическое распространение рода *Dunaliella Teod.* и перспективы его практического использования. Киев: Наук. думка. 244 с.].
- Mata T.M., Martins A.A., Caetano N.S. 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. *Renew. Sust., Energ. Rev.* 14: 217–232.
- Muzafarov A.M., Taubaev T.T. 1984. *Cultivation and application of microalgae*. Tashkent: FAN. 137 p. [Музафаров А.М., Таубаев Т.Т. 1984. Культивирование и применение микроводорослей. Ташкент: ФАН. 137 с.].
- Nascimento I.A., Marques S.S.I., Cabanelas I.T.D., Pereira S.A., Druzian J.I., de Souza C.O., Vich D.V., de Carvalho G.C., Nascimento M.A. 2013. Screening microalgae strain for biodiesel production and estimation of fuel quality based on fatty acids profiles as selective criteria. *Bioenerg. Res.* 6: 1–13.
- Patidar S.K., Mitra M., Soundarya R., Mishra S. 2014. Potential *Monoraphidium minutum* for carbon sequestration and lipid production in response to varying growth mode. *Bioresour. Technol.* 172: 32–40.
- Soeder J., Hegewald E. 1988. *Scenedesmus*. In: *Microalgal Biotechnology*. Cambridge: Cambridge Univ. Press. Pp. 58–84.
- Sorochinsky B., Blume Ya., Sozinov O. 2010. *Liquid Biofuels: current state and tendencies*. Kyiv: DIA. 116 p. [Сорочинський Б.В., Блюм Я.Б., Созінов О.О. 2010. Рідкі біопалива: сучасний стан та тенденції. Київ: ДІА. 116 с.].
- Spolaore P., Joannis-Cassan C., Duran S., Isabert A. 2006. Commercial applications of microalgae. *J. Biosci. Bioenerg.* 101(2): 87–96.
- Suzuki S., Yamaguchi N., Nakajima N., Kawachi M. 2018. *Raphidocelis subcapitata* (= *Pseudokirchneriella subcapitata*) provides an insight into genome evolution and environmental adaptation in the *Sphaeropleales*. *Sci. Rep.* 8(1): 8058. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26331-6>
- Tsarenko P.M., Borysova O.V., Blume Ya.B. 2011. Microalgae as bioenergetic object: IBASU-A collection species – perspective producers of biomass as the source of raw stuff for biofuel. *Visn. Nat. Acad. Sci. Ukraine.* 5: 49–54. [Царенко П.М., Борисова О.В., Блюм Я.Б. 2011. Мікроводорості як об'єкт біоенергетики. Види колекції IBASU-A – перспективні продуценти біомаси як джерела сировини для біопалива. *Вісн. НАН України.* 5: 49–54].
- Tsarenko P., Borysova O., Blume Ya. 2016. High biomass producers and promising candidates for biodiesel production from microalgae collection IBASU-A (Ukraine). *Oceanol. Hydrobiol. Stud.* 45(1): 79–85.
- Tsarenko P.M., Borysova O.V., Konishchuk M.O., Biolous O.P. 2014. *Algal strain Acutodesmus dvoformnyi (Acutodesmus dimorphus) (Turpin) P.Tsarenko) – bioresource producer*. Pat. Ukr. no 95400. 6 p. [Царенко П.М., Конишчук М.О., Борисова О.В., Білоус О.П. 2014. Штам водорості *Акутодесмус двоформний (Acutodesmus dimorphus) (Turpin) P.Tsarenko)* – біоресурсний продуцент. Пат. України. № 95400. 6 с.].

- Tsarenko P.M., Borysova O.V., Korkhovyi V.I., Blume Ya.B. 2020. High-efficiency Ukrainian strains of microalgae for biodiesel fuel production (Overview). *Open Agricult. J.* 14: 209–218.
- Tsarenko P.M., Konishchuk M.O., Korkhovoy V.I., Kostikov I.Yu., Blume Ya.B. 2017. Fatty acid composition of cocoid green algae as a basis for energy and primary products potential. *Algologia*. 27(4): 382–402. [Царенко П.М., Конишчук М.А., Корховой В.И., Костиков И.Ю. Блюм Я.Б. 2017. Жирнокислотный состав коккоидных зеленых водорослей как основа их энергосырьевого потенциала. 1. *Chlorella*- и *Acutodesmus*-подобные микроводоросли (*Chlorophyta*). *Альгология*. 27(4): 382–402]. <https://doi.org/10.15407/alg27.04.382>
- Wolf L., Cummings T., Wüller K., Reppke M., Volkmar M., Weuster-Botz D. 2021. Production of β -carotene with *Dunaliella salina* CCA19/18 at physically simulated outdoor conditions. *Eng. Life Sci.* 21: 115–125.
- Wu L., Xu L., Hu C. 2015. Screening and characterization of oleaginous microalgal species from Northern Xinjiang. *J. Microbiol. Biotechnol.* 25(6): 910–917.
- Yu X., Zhao P., He C., Li J., Tang X., Zhou J., Huang Z., Zhou J., Huang Z. 2012. Isolation of a novel strain of *Monoraphidium* sp. and characterization of its potential application as biodiesel feedstock. *Biores. Technol.* 121: 256–262.
- Zolotaryova O.K., Schnyukova E.L., Sivash O.O., Mykhailenko N.F. 2008. *Perspectives for applications of microalgae in biotechnology*. Kyiv: Alterpress. 234 p. [Золотарьова О.К., Шнюкова Є.І., Сиваш О.О., Михайленко Н.Ф. 2008. *Перспективи використання водоростей у біотехнології*. Київ: Альтерпрес. 234 с.].

Підписала до друку О.К. Золотарьова

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

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

An information on the collection of strains of biotechnological application as an integral part of Microalgal Culture Collection of the M.G. Kholodny Institute of Botany of NAS of Ukraine (IBASU-A) is given. The base of its funds contains some green algal strains belonging to the families of *Dunaliellaceae*, *Chlorellaceae*, *Scenedesmaceae* and *Selenastraceae*. They have been isolated from different regions of Ukraine in order to find cultures of phototrophic microorganisms – promising for biotechnology, in particular, obtaining biologically active additives for the needs of the food industry, medicine, agriculture, raw materials for the production of biofuels, as well as bioindication, biomonitoring, bioremediation of aquatic objects of the environment, etc. Overall, this special collection includes 90 strains of halophile and freshwater microalgae of 30 species, 15 genera, 7 families, 4 orders, 2 classes. All of them are considered as important objects for industrial cultivation, solution of environmental problems, and the basis for further biotechnological research.

Key words: IBASU-A-collection, microalgae, strains, biotechnology, biofuel, bioremediation, bacterial consortia

Морфологія, анатомія, цитологія

- Генкал С.І. Морфологія, таксономія та поширення рідкісного виду *Aulacoseira cataractarum* (Hustedt) Simonsen (*Bacillariophyta*) в Росії..... 1, 3
- Генкал С.І., Щербак В.І., Семенюк Н.Є. Морфологічна мінливість деяких видів пенатних діатомових водоростей (*Bacillariophyta*) із водойм зони відчуження Чорнобильської АЕС (Україна)..... 3, 205
- Щербак В.І., Генкал С.І., Семенюк Н.Є. Динаміка перифітону *Bacillariophyta* на різних етапах експлуатації водойми-охолоджувача Чорнобильської АЕС (Україна)..... 4, 299

Генетика

- Боднар О.І., Андрєєв І.О., Прокоп'як М.З., Дробик Н.М., Грубінко В.В. Аналіз генетичного поліморфізму культури *Chlorella vulgaris* Вейер. за вирощування в присутності селеніту натрію в комбінації з сульфатом цинку чи хлоридом хрому..... 2, 113

Фізіологія, біохімія, біофізика

- Ле Дін Хунг, Во Ті Дьє Транг. Лектин, специфічний до N-ацетилнейрамінової кислоти, з червоної водорості *Gracilaria canaliculata* Sonder та його антибактеріальна активність..... 2, 113
- Поліщук О.В. Роль карбоангідраз у механізмах концентрування карбону водних фотоавтотрофів..... 4, 337
- Царенко П.М., Заїменко Н.В., Дідик Н.П., Іваницька Б.О., Харитонов І.П., Демченко Е.М. Алелопатичний вплив мікроводоростей на пшеницю озиму 3, 215
- Царенко П.М., Заїменко Н.В., Дідик Н.П., Елланська Н.Е., Павлюченко Н.А., Іваницька Б.О., Юношева О.П., Демченко Е.М. Вплив культуральної рідини *Interfillum terricola* (J.B. Petersen) Mikhailyuk et al. (*Charophyta*) на алелопатичні, мікробіологічні, агрофізичні та агрохімічні властивості ґрунту 4, 320
- Чернобай Н.А., Возовик К.Д., Каднікова Н.Г. Порівняльний аналіз методів оцінки збереженості культур мікроводоростей *Dunaliella salina* Teodoresco та *Chlorococcum dissectum* Korshikov (*Chlorophyta*) після впливу стрес-факторів 4, 353

Екологія, ценологія, охорона та роль водоростей у природі

- Брянцева Ю.В. Особливості сезонної сукцесії фітопланктону в прибережній зоні Криму (Чорне море) у різні за кліматичними умовами роки (2009–2014) 4, 365

* Напівжирним шрифтом позначений номер журналу, світлим – сторінка.

Мінічева Г.Г., Цецхладзе М.С. Сучасний стан макрофітобентосу чорноморського узбережжя Грузії	1, 9
Садогурський С.Ю., Садогурська С.О., Беліч Т.В. Склад і розподіл макрофітобентосу біля берегів п-ва Тарханкут (Чорне море, Крим)	3, 249
Снігірьова А.О., Сілантьєв С.О., Гончаров О.Ю., Кошелев О.В. Вплив екологічних факторів на мікроводорості псамону на прикладі Одеської затоки (Чорне море, Україна)	3, 228

Флора та географія

Михайлюк Т.І., Виноградова О.М., Глазер К., Рибалка Н.А., Демченко Е.М., Карстен У. Водорості біологічних ґрунтових кірочок приморських дюн Дунайського біосферного заповідника (Одеська область, Україна)	1, 25
--	-------

Викопні водорості

Пушкар В.С. Комплекси діатомей верхнього пліоцену та їхнє значення для встановлення нижньої межі кватеру (південь Далекого Сходу)	2, 141
---	--------

Систематика, філогенія, питання еволюції водоростей

Садогурська С.С. Неприкріплена форма цистозіри в Чорному морі: таксономія <i>Gongolaria barbata</i> f. <i>repens</i> comb. nov.	2, 150
--	--------

Нові та рідкісні таксони

Березовська В.Ю., Бурова О.В., Райда О.В. Нові знахідки <i>Bambusina borneri</i> (Ralfs) Cleve (<i>Charophyta</i>) – виду з Червоної книги України	1, 63
Генкал С.І. Новий для флори України вид роду <i>Aulacoseira</i> Thw. (<i>Bacillariophyta</i>)	2, 163
Генкал С.І., Трифонова І.С. Нові дані до флори <i>Centrophyceae</i> (<i>Bacillariophyta</i>) Невської губи (Росія)	4, 381
Ліліцька Г.Г. Знахідка діатомової водорості <i>Cymbella australica</i> (A.Schmidt) Cl. у водоймах м. Києва (Україна)	3, 271
Ткаченко Ф.П. Нова знахідка <i>Pleurocladia lacustris</i> A.Braun (<i>Phaeophyceae</i>) у Дніпровському лимані Чорного моря (Україна)	1, 74

Прикладна альгологія

Вонг Ю.С., Рома Д.М. Потенціал біорозкладання та властивості біопластику з мікроводоростей	1, 80
Шаран Л.В., Веніла Дж.Дж. Фітофармакологічне дослідження водорості <i>Kappaphycus alvarezii</i> (Doty) Doty ex Silva (<i>Rhodophyta</i>) для застосування при оральних захворюваннях	2, 170
Борисова О.В., Царенко П.М. Штами колекції мікроводоростей IBASU-A – об'єкти біотехнології	4, 389

Методика

- Нур Фадзіліана А.Р., Ван Мазна В.О., Нор С.А.М., Чун Пін Фонг, Ло Вей.* Різноманіття епіпельних ціанобактерій басейну р. Пінанг, Малайзія, виявлене за допомогою метагеномного підходу на основі 16S **1**, 93

Огляди. Історія альгології

- Кузнєцов В.О., Ткаченко Ф.П.* Альгологічні дослідження в Одеському університеті (1965–2015). Становлення школи професора І.І. Погребняка **3**, 279

Персоналії

- Ольштинська О.П.* Пам'яті колеги. Стрельнікова Ніна Іванівна (28.05.1933 – 07.12.2020) **2**, 200
- Соломону Павловичу Вассеру – 75..... **3**, 296

Нові книги

- Еннан А.А.-А. та ін.* Енциклопедія Куяльницького лиману **2**, 204