

УДК 582.261.1-152.4

**ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ДИАТОМОВЫХ ВОДОРОСЛЕЙ  
*PSEUDO-NITZSCHIA HASLEANA* И *THALASSIOSIRA PSEUDONANA*  
В СМЕШАННОЙ КУЛЬТУРЕ**

© 2023 г. **Ж. В. Маркина<sup>1</sup>, А. Ю. Попик<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Национальный научный центр морской биологии имени А. В. Жирмунского ДВО РАН,  
Владивосток, Российская Федерация

<sup>2</sup>Институт автоматизации и процессов управления ДВО РАН, Владивосток, Российская Федерация  
E-mail: [zhannav@mail.ru](mailto:zhannav@mail.ru)

Поступила в редакцию 16.05.2022; после доработки 08.06.2022;  
принята к публикации 04.08.2023; опубликована онлайн 21.09.2023.

Представители рода *Pseudo-nitzschia* (Bacillariophyta) вызывают цветения в разных районах Мирового океана, поэтому важно знать экологические особенности этих видов, в том числе то, как они взаимодействуют с другими видами одноклеточных водорослей. Кроме того, необходима методика быстрой идентификации данных водорослей в среде. В связи с этим нами оценена динамика численности клеток *Pseudo-nitzschia hasleana* и *Thalassiosira pseudonana* в моно- и смешанных культурах путём их прямого подсчёта в камере Нахотта. Также проанализированы температурные кривые флуоресценции хлорофилла *a*, полученные методом лазерно-индуцированной флуоресценции в температурной камере. Опыты проводили в течение 14 суток. Показано, что *P. hasleana* оказывала различное действие на *T. pseudonana* в зависимости от начальной численности *T. pseudonana*. При начальной концентрации  $0,8 \times 10^4$  кл.·мл<sup>-1</sup> происходила выраженная стимуляция роста этой диатомовой водоросли. При начальных концентрациях  $1,6 \times 10^4$  и  $3,2 \times 10^4$  кл.·мл<sup>-1</sup> отмечено ингибирование её роста. В смешанной культуре *T. pseudonana* оставалась в стационарной фазе роста, тогда как в монокультуре популяция входила в фазу отмирания к 14-м суткам опыта. *T. pseudonana* ингибировала рост *P. hasleana*. Эксперимент с совместным культивированием *P. hasleana* и *T. pseudonana* показал, что на флуоресценцию хлорофилла *a* смеси оказывает большее воздействие та микроводоросль, концентрация которой значительно выше. Флуоресцентный сигнал двух культивируемых отдельно монокультур потенциально может быть использован для их поиска в смеси.

**Ключевые слова:** *Pseudo-nitzschia hasleana*, *Thalassiosira pseudonana*, аллелопатия, флуоресценция хлорофилла *a*, идентификация микроводорослей

На природные фитопланктонные сообщества воздействует множество экологических факторов. Они способны вызывать цветения или, наоборот, препятствовать им [Lima-Mendez et al., 2015]. Показано, что доминирование токсического комплекса *Pseudo-nitzschia* spp. связано со снижением соотношения N:Si при наличии стоков канализационных вод. *Pseudo-nitzschia australis* Frenguelli, 1939 способна к осмотрофному потреблению мочевины и активному росту на ней, что является причиной цветений этого вида [Burkholder et al., 2008]. Влияние биотических факторов, в частности взаимодействие микроводорослей друг с другом, остаётся менее исследованной проблемой [Long et al., 2018]. Оценка роста смешанных культур микроводорослей в лабораторном эксперименте — один из способов

анализа биотических взаимодействий. При этом исследуют отношения популяция — популяция, определяют границы устойчивости сосуществующих видов, условия их доминирования и элиминации [Mikheev et al., 2018]. Однако до сих пор отсутствует стандартизованная методология изучения воздействий популяций водорослей друг на друга, как например, при токсикологических исследованиях [Long et al., 2018].

Представители рода *Pseudo-nitzschia* повсеместно распространены в водах Мирового океана [Huang et al., 2009; Sobrinho et al., 2017; Trainer et al., 2012; Yasakova, 2013]. Интерес к ним вызван не только их периодическими цветениями, но и наличием в них домоевой кислоты, являющейся токсичной для теплокровных животных [Trainer et al., 2012]. Численность *Pseudo-nitzschia* в моновидовом цветении может достигать  $1 \times 10^6$  кл.·мл<sup>-1</sup> [Louw et al., 2017], а продолжительность цветения — двух месяцев [Bates et al., 1989]. При этом *Pseudo-nitzschia* spp. может составлять 99 % общего количества фитопланктона [Lundholm et al., 2005].

В фитопланктонном сообществе совместно с *Pseudo-nitzschia* spp. регулярно регистрируют представителей другого рода диатомовых водорослей — *Thalassiosira* [Balzano et al., 2017; Orlova et al., 2009]. Показано, что у этих родов одинаковая потребность в железе [Cohen et al., 2017]. *Thalassiosira pseudonana* участвует в сукцессионном цикле фитопланктона и имеет важное экологическое значение как вид, влияющий на формирование цветений фитопланктона [Ianora et al., 2011]. Интерес к данной микроводоросли обусловлен в том числе случаями гибели лососей во время её массового размножения [Mardones, 2020]. Виды этого рода часто встречаются в водах умеренных и полярных морей [Harris et al., 1995].

Как правило, оценку действия культур друг на друга проводят на аллелопатически агрессивных видах, в меньшей степени — на сосуществующих видах [Phatarpekar et al., 2000]. Ранее нами показано, что флуоресцентные характеристики *Pseudo-nitzschia* могут быть использованы для её идентификации в воде [Popik et al., 2022]. Однако вследствие воздействия водорослей друг на друга при совместном культивировании возникает вопрос о том, может ли совместный рост разных видов оказывать влияние и на флуоресценцию хлорофилла *a* микроводорослей, затрудняя их идентификацию в естественной среде. Именно поэтому цель настоящей работы — исследовать рост и температурные кривые флуоресценции хлорофилла *a* диатомей *Pseudo-nitzschia hasleana* и *Thalassiosira pseudonana* в смешанной культуре.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

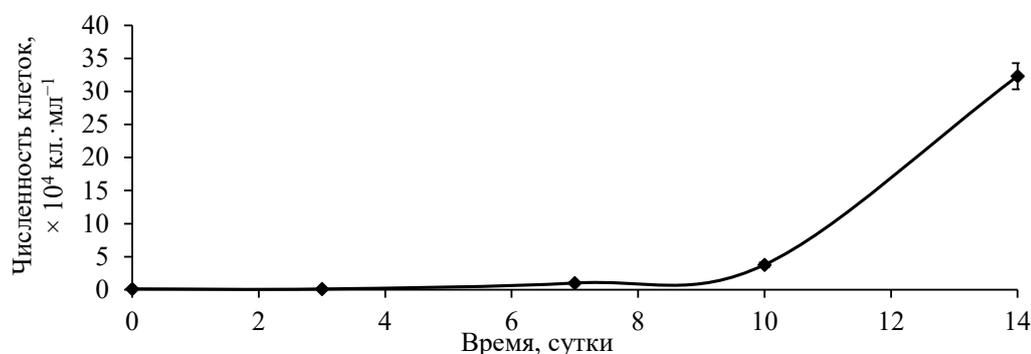
Объекты исследования — штаммы культур одноклеточных водорослей *Pseudo-nitzschia hasleana* Lundholm, 2012 MBRU\_PH18 и *Thalassiosira pseudonana* Hasle & Heimdal, 1970 (Bacillariophyta) MBRU\_TSP-02. Водоросли выращивали на среде f [Guillard, Ryther, 1962], приготовленной на основе фильтрованной и стерилизованной морской воды солёностью 32 ‰, в 250-мл колбах Эрленмейера с объёмом культуральной среды 100 мл, при температуре +18 °С, интенсивности освещения 70 мкмоль·м<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup> и свето-темновом периоде 14 ч : 10 ч (свет : темнота). В качестве инокулята использовали культуры на экспоненциальной стадии роста. Начальные концентрации клеток —  $0,1 \times 10^4$  кл.·мл<sup>-1</sup> для *P. hasleana* и  $0,8 \times 10^4$ ,  $1,6 \times 10^4$  и  $3,2 \times 10^4$  кл.·мл<sup>-1</sup> для *T. pseudonana*. Соотношение биообъёмов клеток *P. hasleana* : *T. pseudonana* составляло 1:1, 1:2 и 1:4. Биообъём *P. hasleana* — 210 мкм<sup>3</sup>, *T. pseudonana* — 26,5 мкм<sup>3</sup>. Расчёт биообъёмов водорослей произведён по формулам [Hillebrand et al., 1999].

Эксперименты проводили в два этапа. На первом исследовали динамику численности микроводорослей в монокультурах при разных начальных концентрациях, на втором изучали рост микроводорослей в смешанной культуре *P. hasleana* и *T. pseudonana*. Продолжительность экспериментов составляла 14 суток. Пробы для подсчёта клеток отбирали на 3, 7, 10 и 14-е сутки.

Численность клеток микроводорослей подсчитывали в камере Нажотта. Спектры флуоресценции микроводорослей, а также температурные кривые интенсивности флуоресценции хлорофилла *a* и температурные кривые длины волны флуоресценции хлорофилла *a* определяли согласно методам, описанным ранее [Popik et al., 2022; Voznesenskiy et al., 2019]. Эксперименты проведены в трёх повторностях. Статистическая обработка выполнена с помощью программы MS Excel. На графиках представлены средние значения и стандартные отклонения.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

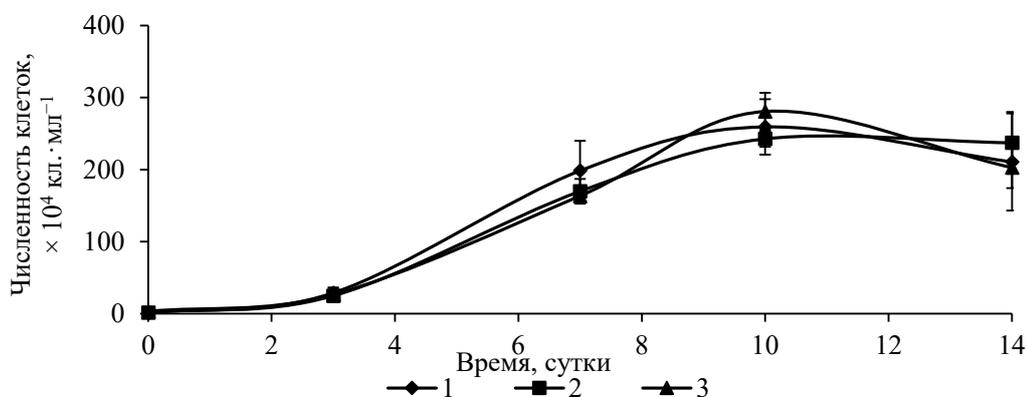
**Рост *Pseudo-nitzschia hasleana* и *Thalassiosira pseudonana* в монокультурах.** Концентрация клеток *P. hasleana* 3 суток оставалась на низком уровне, а к 7-м суткам увеличилась до  $1 \times 10^4$  кл.·мл<sup>-1</sup> (рис. 1). За период с 10-х по 14-е сутки число клеток возросло с  $3,8 \times 10^4$  до  $32,4 \times 10^4$  кл.·мл<sup>-1</sup>.



**Рис. 1.** Кривая роста *Pseudo-nitzschia hasleana* в монокультуре

**Fig. 1.** Growth curve of *Pseudo-nitzschia hasleana* in the monoculture

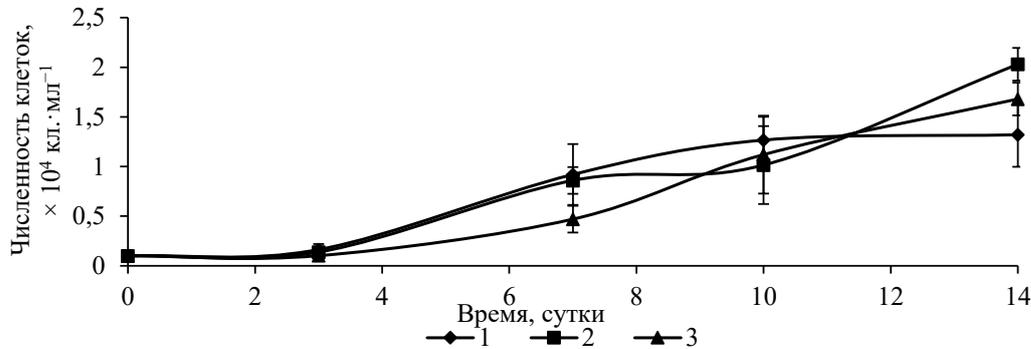
К 3-м суткам число клеток *T. pseudonana* достоверно не отличалось при всех начальных концентрациях клеток (рис. 2). Максимальная численность отмечена на 10-е сутки опыта. В последние дни эксперимента число клеток в культурах снижалось.



**Рис. 2.** Кривые роста *Thalassiosira pseudonana* в монокультуре. Начальная концентрация клеток, кл.·мл<sup>-1</sup>: 1 —  $0,8 \times 10^4$ ; 2 —  $1,6 \times 10^4$ ; 3 —  $3,2 \times 10^4$

**Fig. 2.** Growth curve of *Thalassiosira pseudonana* in the monoculture. Initial concentration of cells, cells·mL<sup>-1</sup>: 1,  $0,8 \times 10^4$ ; 2,  $1,6 \times 10^4$ ; 3,  $3,2 \times 10^4$

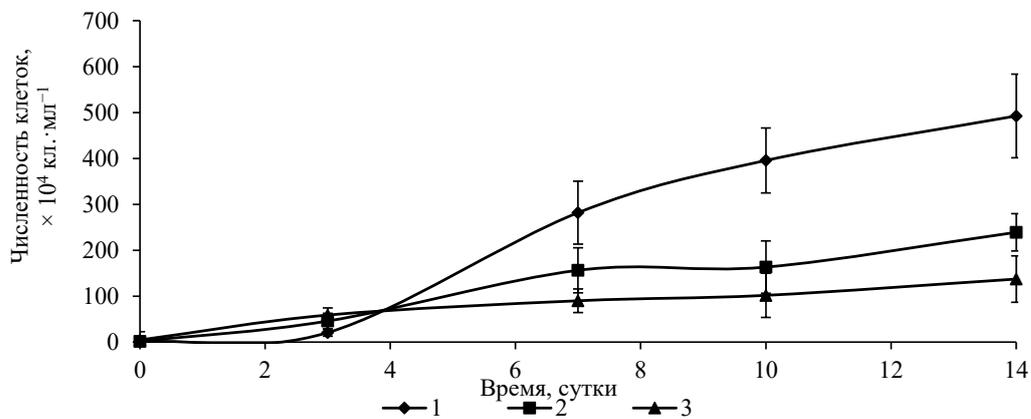
**Рост *Pseudo-nitzschia hasleana* и *Thalassiosira pseudonana* в смешанных культурах.** Количество клеток *P. hasleana* увеличивалось после 3 суток эксперимента (рис. 3). При начальной концентрации клеток *T. pseudonana*  $0,8 \times 10^4$  кл.·мл<sup>-1</sup> отмечен выход *P. hasleana* в стационарную фазу роста на 7-е сутки, а при более высоких начальных концентрациях *T. pseudonana* число клеток *P. hasleana* увеличивалось даже в последние сутки.



**Рис. 3.** Кривая роста *Pseudo-nitzschia hasleana* в смешанной с *Thalassiosira pseudonana* культуре. Начальная концентрация клеток *T. pseudonana*, кл.·мл<sup>-1</sup>: 1 —  $0,8 \times 10^4$ ; 2 —  $1,6 \times 10^4$ ; 3 —  $3,2 \times 10^4$

**Fig. 3.** Growth curve of *Pseudo-nitzschia hasleana* in the mixed culture with *Thalassiosira pseudonana*. Initial concentration of *T. pseudonana* cells, cells·mL<sup>-1</sup>: 1,  $0,8 \times 10^4$ ; 2,  $1,6 \times 10^4$ ; 3,  $3,2 \times 10^4$

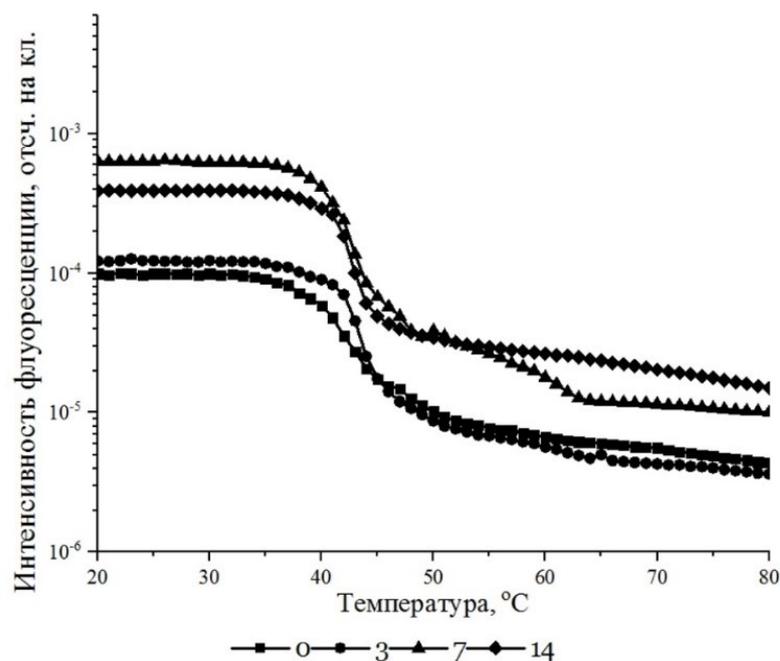
Численность клеток *T. pseudonana* в смеси увеличивалась с начала эксперимента при всех её начальных концентрациях (рис. 4). При концентрации  $3,2 \times 10^4$  кл.·мл<sup>-1</sup> рост водоросли после 7-х суток ингибировался: количество клеток составляло  $137 \times 10^4$  кл.·мл<sup>-1</sup>, а в монокультуре —  $203 \times 10^4$  кл.·мл<sup>-1</sup>.



**Рис. 4.** Кривая роста *Thalassiosira pseudonana* в смешанной культуре с *Pseudo-nitzschia hasleana*. Начальная концентрация клеток *T. pseudonana*, кл.·мл<sup>-1</sup>: 1 —  $0,8 \times 10^4$ ; 2 —  $1,6 \times 10^4$ ; 3 —  $3,2 \times 10^4$

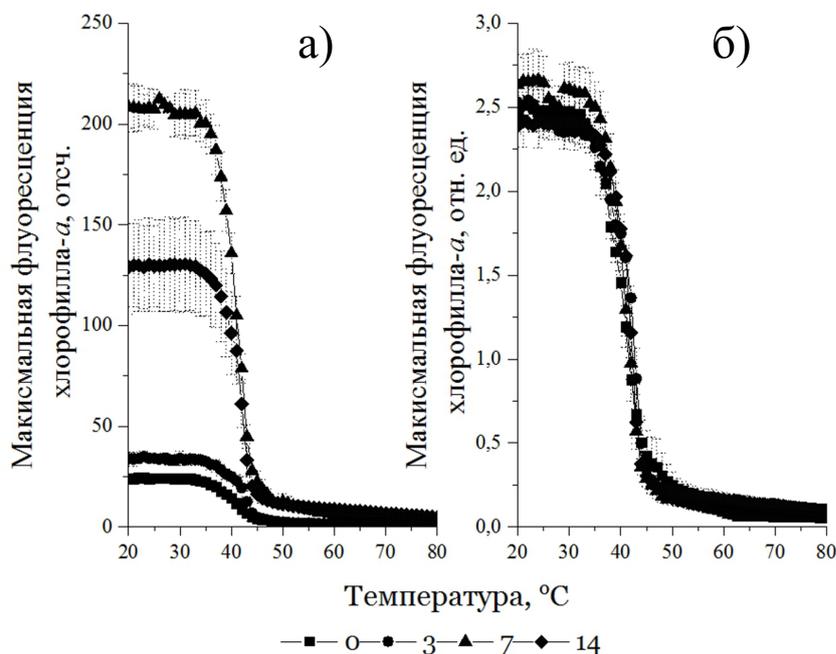
**Fig. 4.** Growth curve of *Thalassiosira pseudonana* in the mixed culture with *Pseudo-nitzschia hasleana*. Initial concentration of *T. pseudonana* cells, cells·mL<sup>-1</sup>: 1,  $0,8 \times 10^4$ ; 2,  $1,6 \times 10^4$ ; 3,  $3,2 \times 10^4$

Флуоресценция клеток *P. hasleana* в течение первой недели коррелирует с их концентрацией. По мере роста культур *Pseudo-nitzschia* sp. размер клеток уменьшается [Lelong et al., 2012; Trainer et al., 2012]; следовательно, количество хлорофилла на клетку снижается, что приводит к уменьшению флуоресценции. Данный эффект должен наблюдаться при более длительном культивировании, но даже в нашем эксперименте отмечено снижение интенсивности флуоресценции хлорофилла *a* клеток на 14-й день по сравнению с таковой на 7-й день (рис. 5, 6).



**Рис. 5.** Температурные кривые флуоресценции клеток *Pseudo-nitzschia hasleana* при культивировании в течение двух недель: 0 — начало эксперимента; 3 — 3-й день; 7 — 7-й день; 14 — последний день

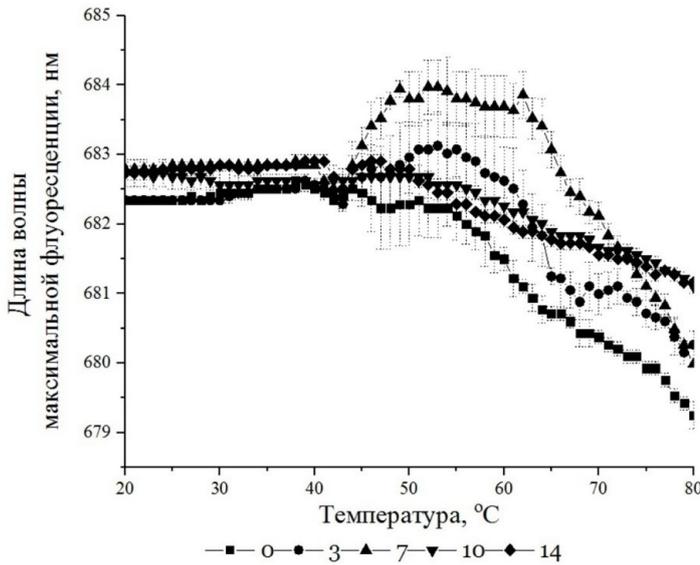
**Fig. 5.** Fluorescence temperature curves of *Pseudo-nitzschia hasleana* cells during cultivation for two weeks: 0, the beginning of the experiment; 3, the 3<sup>rd</sup> day; 7, the 7<sup>th</sup> day; 14, the last day



**Рис. 6.** Температурные кривые флуоресценции хлорофилла *a* *Pseudo-nitzschia hasleana*: а — абсолютные значения; б — нормированные на среднюю интенсивность. Время эксперимента: 0 — начало; 3 — 3-й день; 7 — 7-й день; 14 — последний день

**Fig. 6.** Temperature curves of *Pseudo-nitzschia hasleana* chlorophyll *a* fluorescence: а, absolute values; б, normalized to mean intensity. The time of the experiment: 0, the beginning; 3, the 3<sup>rd</sup> day; 7, the 7<sup>th</sup> day; 14, the last day

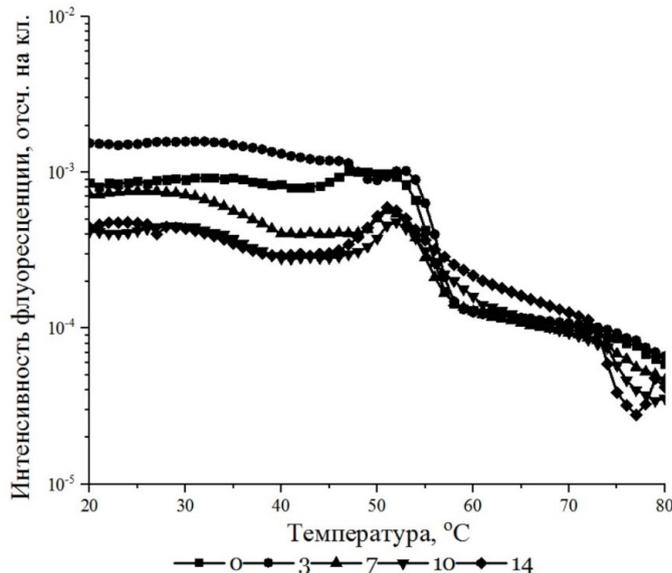
Анализ формы температурных кривых флуоресценции хлорофилла *a* микроводорослей *P. hasleana* (рис. 6) проведён нами ранее [Popik et al., 2022]. Полученные в ходе эксперимента температурные кривые длины волны флуоресценции хлорофилла *a* монокультуры *P. hasleana* показывают, что в диапазоне +20...+40 °С максимум интенсивности флуоресценции хлорофилла *a* находится на длине волны 682,5 нм (рис. 7).



**Рис. 7.** Изменение длины волны максимума флуоресценции хлорофилла *a* для монокультур *Pseudo-nitzschia hasleana*. Время эксперимента: 0 — начало; 3 — 3-й день; 7 — 7-й день; 10 — 10-й день; 14 — последний день

**Fig. 7.** Changes in the wavelength of chlorophyll *a* fluorescence maximum for *Pseudo-nitzschia hasleana* monocultures. The time of the experiment: 0, the beginning; 3, the 3<sup>rd</sup> day; 7, the 7<sup>th</sup> day; 10, the 10<sup>th</sup> day; 14, the last day

Монокультура *T. pseudonana*, отсеянная с концентрацией  $0,8 \times 10^4$  кл.·мл<sup>-1</sup>, достигает пределов роста (стационарная фаза) в течение 10 дней. После начинается отмирание культуры. Это может проявляться в уменьшении интенсивности флуоресценции отдельных клеток (рис. 8).

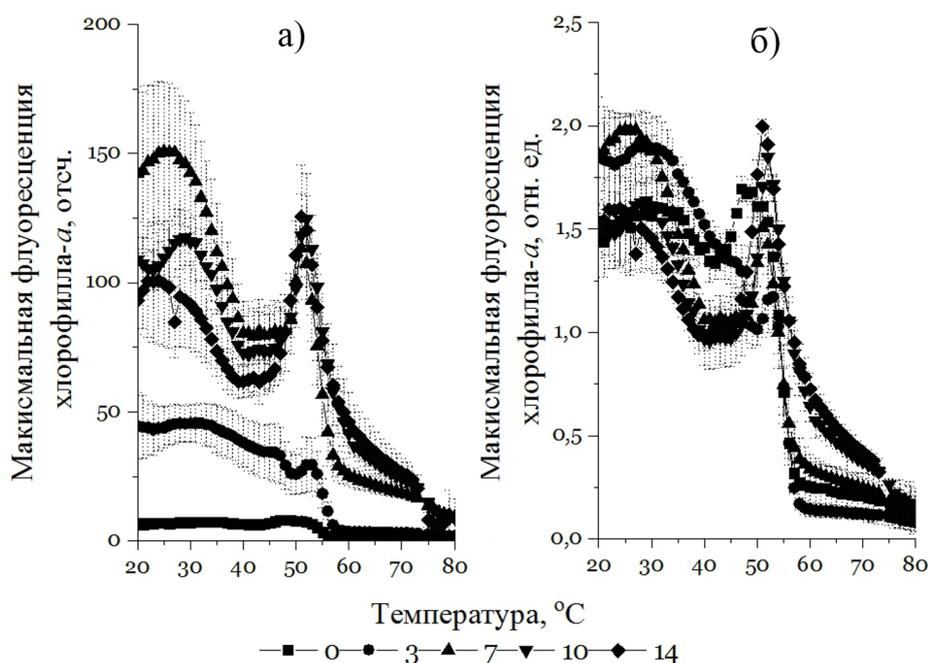


**Рис. 8.** Температурные кривые флуоресценции клеток *Thalassiosira pseudonana* при культивировании в течение двух недель. Время эксперимента: 0 — начало; 3 — 3-й день; 7 — 7-й день; 10 — 10-й день; 14 — последний день

**Fig. 8.** Fluorescence temperature curves of *Thalassiosira pseudonana* cells during cultivation for two weeks. The time of the experiment: 0, the beginning; 3, the 3<sup>rd</sup> day; 7, the 7<sup>th</sup> day; 10, the 10<sup>th</sup> day; 14, the last day

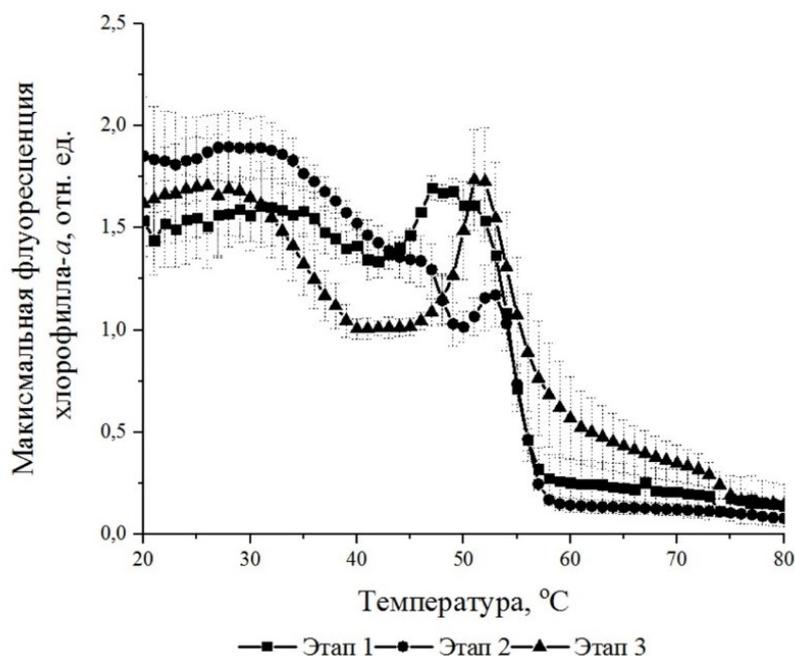
Можно заключить, что микроводоросль в лабораторной культуре находится примерно в таком же состоянии, что и микроводоросли во время реального цветения. Нормированная температурная кривая флуоресценции (далее — НТКФ) культуры при этом видоизменяется (рис. 9), и различие её форм соответствует трём этапам: НТКФ при низких концентрациях (0-й день), НТКФ растущей культуры (3-й день) и НТКФ «стагнирующей» культуры (7–14-й дни) с высокой

концентрацией (рис. 10). Если не брать в расчёт увеличение флуоресценции хлорофилла *a* клеток, наблюдающееся у *T. pseudonana* на 3-й день эксперимента, можно сделать вывод об обратной корреляции роста концентрации культуры и флуоресценции хлорофилла *a* клеток. Увеличение флуоресценции хлорофилла *a* после посева может быть вызвано связанным с ним стрессом культуры.



**Рис. 9.** Температурные кривые флуоресценции хлорофилла *a* культуры микроводоросли *Thalassiosira pseudonana*: а — абсолютные значения; б — нормированные на среднюю интенсивность. Время эксперимента: 0 — начало; 3 — 3-й день; 7 — 7-й день; 14 — последний день

**Fig. 9.** Fluorescence temperature curves of chlorophyll *a* for the culture of the microalga *Thalassiosira pseudonana*: а, absolute values; б, normalized to mean intensity. The time of the experiment: 0, the beginning; 3, the 3<sup>rd</sup> day; 7, the 7<sup>th</sup> day; 14, the last day

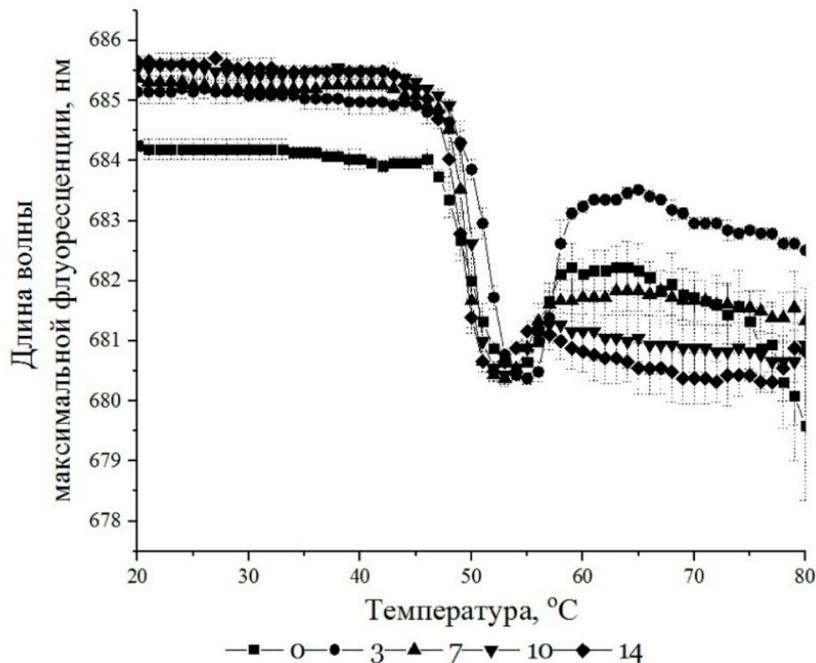


**Рис. 10.** Температурные кривые флуоресценции хлорофилла *a* культуры микроводоросли *Thalassiosira pseudonana*, соответствующие разным этапам развития. Этап 1 — начальный, во время которого не происходит сильный рост; этап 2 соответствует быстрому, экспоненциальному росту; этап 3 — этап «стагнации»

**Fig. 10.** Fluorescence temperature curves of chlorophyll *a* for the culture of the microalga *Thalassiosira pseudonana* corresponding to different stages of development. Stage 1 is the initial one, during which there is no significant growth; stage 2 corresponds to rapid, exponential growth; stage 3 is the stage of “stagnation”

Температурные кривые флуоресценции *T. pseudonana* для всех трёх этапов имеют сходства. Это стабильная высокая флуоресценция хлорофилла *a* в диапазоне +20...+32 °С, наличие локального максимума его флуоресценции при +50...+53 °С и стабилизация флуоресценции хлорофилла *a* на низком уровне при температурах выше +60 °С. При этом для начального этапа роста характерно более высокое значение флуоресценции хлорофилла *a* в локальном максимуме, чем для нормальных температур. Для этапа роста локальный максимум флуоресценции хлорофилла *a* значительно ниже по интенсивности, чем флуоресценция на начальных этапах. Локальный максимум интенсивности флуоресценции хлорофилла *a* на этапе «стагнации» сопоставим с интенсивностью при температуре +20 °С.

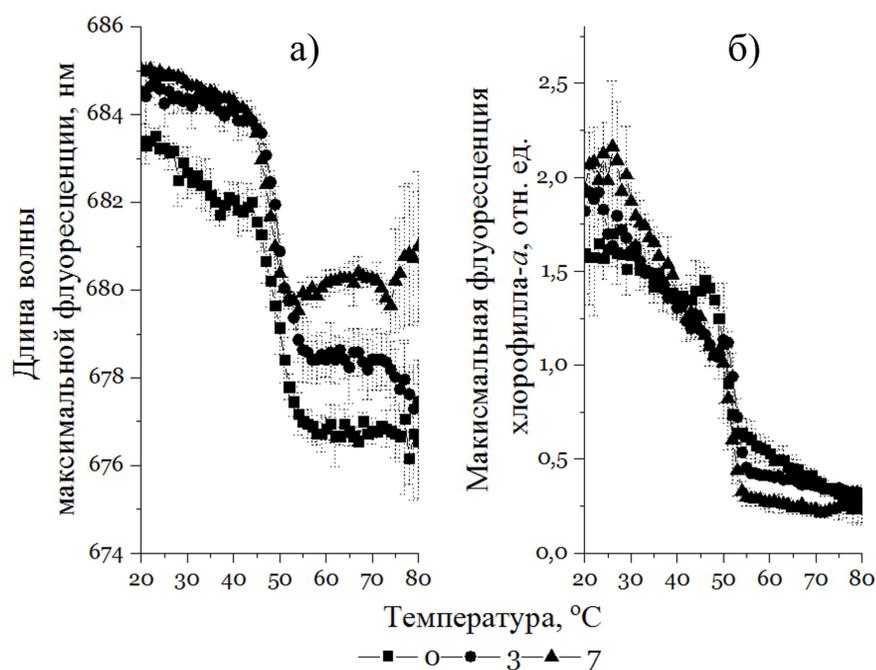
Температурные кривые флуоресценции хлорофилла *a* монокультуры на всех стадиях культивирования остаются относительно стабильными (рис. 11); при +20...+45 °С длина волны максимума флуоресценции хлорофилла *a* составляет 685,5 нм. Отличие в длине волны максимума в 1-й день от таковой в остальные дни может быть связано с адаптацией монокультуры во время её посева. Также стабильны температурные кривые длины волны флуоресценции хлорофилла *a* для всех дней культивирования в диапазоне +45...+52 °С. В этом диапазоне происходит резкое уменьшение длины волны максимума флуоресценции хлорофилла *a* с 685,5 до 680,5 нм. Далее наблюдается незначительный рост длины волны в течение 2–3 мин ( $dT = 2 \dots 3$  °С) с последующим медленным монотонным её уменьшением. При этом в диапазоне +55...+80 °С температурные кривые длины волны флуоресценции хлорофилла *a* культуры на разных этапах культивирования начинают отличаться друг от друга. Это может быть связано с различной композицией пигмент-белковых комплексов для культуры, которая проходит все этапы роста.



**Рис. 11.** Изменение максимума флуоресценции хлорофилла *a* для монокультур микроводоросли *Thalassiosira pseudonana*. Время эксперимента: 0 — начало; 3 — 3-й день; 7 — 7-й день; 10 — 10-й день; 14 — последний день

**Fig. 11.** Changes in chlorophyll *a* fluorescence maximum for monocultures of the microalga *Thalassiosira pseudonana*. The time of the experiment: 0, the beginning; 3, the 3<sup>rd</sup> day; 7, the 7<sup>th</sup> day; 10, the 10<sup>th</sup> day; 14, the last day

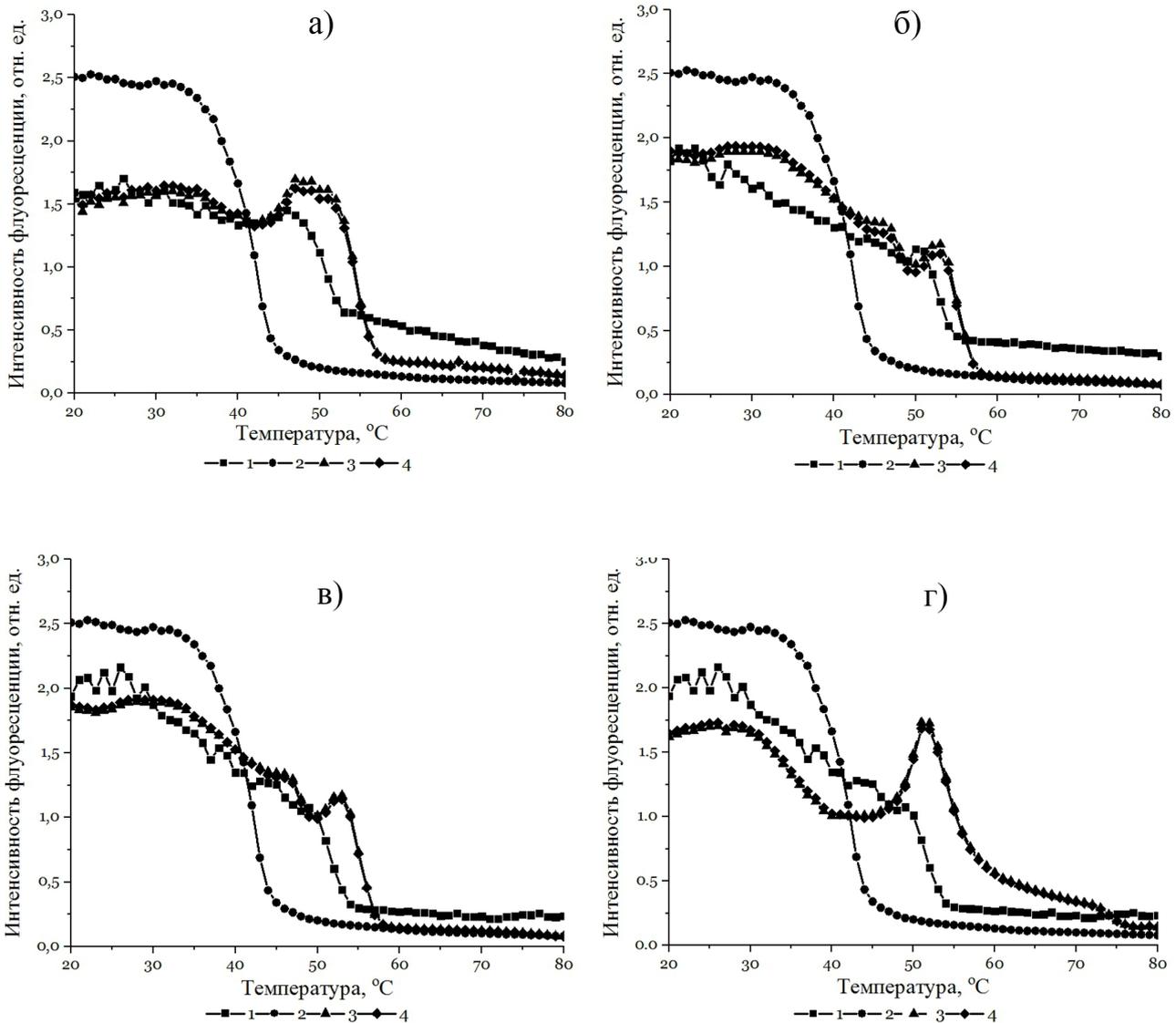
Так как микроводоросли *Pseudo-nitzschia* способны формировать красные приливы [Trainer et al., 2012] и часто развиваются совместно с другими диатомовыми водорослями, изучение флуоресцентных характеристик смесей *Pseudo-nitzschia* и других диатомей представляет особый интерес для дальнейшего их использования в экологическом мониторинге. Из-за разной скорости роста на 7-й день эксперимента микроводоросли в смеси *P. hasleana* : *T. pseudonana* находились в концентрациях 1 : 30. При таком соотношении воздействие флуоресценции культуры *P. hasleana* в смеси становится незначительным, поскольку основной вклад в сигнал флуоресценции вносит *T. pseudonana*. Так как флуоресцентные характеристики планируется использовать для экологического мониторинга, изучение смесей, в которых нельзя измерять флуоресцентный сигнал хлорофилла *a* *P. hasleana*, не имеет перспектив. Поэтому решено не измерять флуоресценцию хлорофилла *a* смесей при дальнейшем культивировании. В температурных кривых длины волны флуоресценции хлорофилла *a* исследованных смесей преобладали водоросли *T. pseudonana* (рис. 12). Форма НТКФ смесей сильно коррелирует с формой НТКФ микроводорослей *T. pseudonana*, что видно при сравнении НТКФ смеси и НТКФ, полученной как сумма НТКФ монокультур.



**Рис. 12.** Флуоресцентные характеристики смеси культур *Pseudo-nitzschia hasleana* и *Thalassiosira pseudonana*: а — температурные кривые длины волны флуоресценции хлорофилла *a* смеси; б — нормированные температурные кривые флуоресценции (НТКФ) смеси. Время эксперимента: 0 — начало; 3 — 3-й день; 7 — 7-й день

**Fig. 12.** Fluorescent characteristics of the mixed culture of *Pseudo-nitzschia hasleana* and *Thalassiosira pseudonana*: а, temperature curves of chlorophyll *a* fluorescence wavelength of the mixture; б, normalized fluorescence temperature curves of the mixture. The time of the experiment: 0, the beginning; 3, the 3<sup>rd</sup> day; 7, the 7<sup>th</sup> day

На рис. 13 представлены сравнения НТКФ смесей и суммированных монокультур. Суммирование НТКФ осуществляли исходя из пропорционального соотношения клеток в культуре смеси. При суммировании НТКФ для 0-х суток использовали НТКФ *T. pseudonana* начального этапа, а при суммировании НТКФ для 3-х и 7-х суток — НТКФ *T. pseudonana* экспоненциального этапа роста.



**Рис. 13.** Температурные кривые флуоресценции хлорофилла *a* смеси культур *Pseudo-nitzschia hasleana* и *Thalassiosira pseudonana* в сравнении с температурными кривыми флуоресценции соответствующих монокультур и их математической суммы: а — нормированные температурные кривые флуоресценции (НТКФ) *Thalassiosira pseudonana* на начальной стадии; б — НТКФ *Thalassiosira pseudonana* в начале стадии роста; в — НТКФ *Thalassiosira pseudonana* в конце стадии роста; г — НТКФ *Thalassiosira pseudonana* на стадии «стагнации»; 1 — измеренная характеристика смеси; 2 — характеристика монокультуры *Pseudo-nitzschia hasleana*; 3 — характеристика монокультуры *Thalassiosira pseudonana*; 4 — характеристика смеси монокультур

**Fig. 13.** Fluorescence temperature curves of the mixed culture of *Pseudo-nitzschia hasleana* and *Thalassiosira pseudonana* compared to fluorescence temperature curves of the corresponding monocultures and their mathematical sum: а, normalized fluorescence temperature curves (NFTC) of *Thalassiosira pseudonana* at the initial stage; б, *Thalassiosira pseudonana* NFTC at the beginning of the growth stage; в, *Thalassiosira pseudonana* NFTC at the end of the growth stage; г, *Thalassiosira pseudonana* NFTC in the “stagnation” stage; 1, measured characteristic of the mixture; 2, characteristics of *Pseudo-nitzschia hasleana* monoculture; 3, characteristics of *Thalassiosira pseudonana* monoculture; 4, characteristics of monoculture mixture

## ОБСУЖДЕНИЕ

Конкуренция за лимитирующий ресурс (эксплуатационная конкуренция) является одним из биотических факторов, определяющих структуру фитопланктонного сообщества. При таких условиях организм с меньшим потреблением может быть успешнее других организмов в данном сообществе, становясь новым доминантом. Другая стратегия — интерференционная конкуренция: один организм ингибирует рост других организмов прямо или опосредованно через секрецию химических веществ, межклеточные взаимодействия и т. д. В эвтрофных акваториях на первый план выходит интерференционная конкуренция [Zhao et al., 2018]. Искусственные среды, на которых выращивают микроводоросли, богаты питательными веществами, на основании чего можно предположить, что при совместном культивировании *P. hasleana* и *T. pseudonana* имеет место в большей степени интерференционная конкуренция, чем конкуренция за ресурсы.

При совместном культивировании водорослей не обнаружено изменений размеров и морфологии клеток ни у одного из видов. В то же время при исследовании действия макрофитов *Pyropia haitanensis* (T. J. Chang & B. F. Zheng) N. Kikuchi & M. Miyata, 2011 на *Pseudo-nitzschia multiseries* (Hasle) Hasle, 1995 и *Pseudo-nitzschia pungens* (Grunow ex Cleve) G. R. Hasle, 1993 отмечены искривление створок и конденсация хлоропласта [Patil et al., 2020]. Также в экспериментах на представителях динофитовых рода *Alexandrium* Halim, 1960 при совместном культивировании с другими микроводорослями, в том числе диатомеями, зафиксировано негативное воздействие динофлагеллят на численность и морфологию клеток целевых видов. Кроме того, под действием выделяемых динофлагеллятами метаболитов изменялось физиологическое состояние: происходили ингибирование работы фотосистемы II, повышение содержания активных форм кислорода в клетках, изменение липидного состава, повреждение мембран, иммобилизация и осаждение клеток [Long et al., 2018; Tan et al., 2019; Zheng et al., 2016].

В период, когда *P. hasleana* начинала более интенсивно расти, происходило подавление роста *T. pseudonana* с начальными концентрациями  $1,6 \times 10^4$  и  $3,2 \times 10^4$  кл.·мл<sup>-1</sup>. Однако в это же время отмечена стимуляция роста *T. pseudonana* с наименьшей начальной концентрацией —  $0,8 \times 10^4$  кл.·мл<sup>-1</sup>. Ранее показано, что начальная концентрация клеток монокультуры в смеси влияет на отклик микроводорослей на метаболиты другого вида: при культивировании *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve, 1873 на фильтрах *Heterosigma akashiwo* (Y. Nada) Y. Nada ex Y. Nara & M. Chihara, 1987 рост *S. costatum* ингибировался при низкой концентрации клеток и не подвергался изменениям при высокой [Yamasaki et al., 2009]. Такое же явление наблюдали при культивировании *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin, 1898 с *Prorocentrum donghaiense* D. Lu, 2001 [Cai et al., 2014]. Считается, что мелкие виды водорослей подвержены большему воздействию аллелопатических веществ, чем крупные [Felpeto et al., 2019; Prasetya et al., 2016]. В то же время мелкие виды получают конкурентное преимущество за счёт быстрого роста [Mikheev et al., 2018]. В целом то, какой вид будет иметь преимущество — токсичный или чувствительный к токсину, определяется тем, какой вид начнёт доминировать в среде [Hulot, Huisman, 2004]. В эксперименте с *P. hasleana* и *T. pseudonana* оба вида в смешанных культурах оказывали друг на друга воздействие, в основном ингибирующее, за исключением *T. pseudonana* при самой низкой начальной концентрации клеток в среде. Можно предположить, что взаимодействия между водорослями зависят от их вида, и в настоящий момент сложно увидеть универсальную схему взаимодействия микроводорослей. На сегодняшний день наиболее изученными токсичными водорослями в плане воздействия на другие виды являются динофлагелляты рода *Alexandrium* [Long et al., 2018; Zheng et al., 2016].

В экспериментах по совместному культивированию *Pseudo-nitzschia multiseries* и *Bacillaria* sp. показано, что у *Bacillaria* sp. численность снижалась на 50–70 % [Sobrinho et al., 2017]. Ингибирование роста *T. pseudonana* в смешанной культуре с *P. hasleana* зафиксировано на 3-и сутки опыта.

Численность клеток *Rhodomonas salina* (Wislouch) D. R. A. Hill & R. Wetherbee, 1989, *Chattonella marina* (Subrahmanyam) Hara & Chihara, 1982 и *Akashiwo sanguinea* (K. Hirasaka) Gert Hansen & Moestrup, 2000 как за счёт лизиса, так и за счёт ингибирования роста уменьшалась при совместном культивировании с *P. pungens*, в то время как у *Prorocentrum minimum* (Pavillard) J. Schiller, 1933 и *Phaeocystis globosa* Scherffel, 1899 численность клеток в смешанной культуре с *P. pungens* оставалась такой же, как в монокультуре [Xu et al., 2015].

Домоевая кислота не оказывает токсичного влияния на микроводоросли [Lundholm et al., 2005; Poulin et al., 2018]. В связи с этим можно предположить, что ингибирование роста *T. pseudonana* обусловлено выделением других веществ. Известно, что диатомовые водоросли производят большое количество полиненасыщенных альдегидов [Pichierri et al., 2017], которые запускают каскад реакций, вызывающих гибель клеток микроводорослей путём апоптоза [Ianora et al., 2011].

Согласно теории парадокса планктона, огромное разнообразие планктонных видов в экосистеме с ограниченными ресурсами возможно только при балансе концентраций их клеток, а также доступности света и питательных веществ [Hutchinson, 1961]. В настоящее время аллелопатия считается основным, ключевым компонентом в конкуренции между микроводорослями [Ternon et al., 2018]. Можно предположить, что в природных сообществах взаимодействие видов рода *Thalassiosira* и *Pseudo-nitzschia* является одним из ограничителей их размножения при высоком содержании биогенных элементов. Ранее на примере *S. costatum* и *H. akashiwo* показано, что взаимодействие между этими видами — один из факторов формирования моноцветения [Yamasaki et al., 2007]. Увеличение численности одних видов в фитопланктонном сообществе может снижать прессинг «выедателей» на другие виды сообщества. Так, в Южно-Китайском море в случае роста численности *S. costatum* уменьшается прессинг зоопланктона на *P. pungens*, а это второй важный фактор (после температуры) для данного вида [Huang et al., 2009].

**Заключение.** *Pseudo-nitzschia hasleana* и *Thalassiosira pseudonana* оказывали друг на друга влияние в смешанной культуре. Воздействие *P. hasleana* на *T. pseudonana* зависело от начальной концентрации клеток *T. pseudonana*. В частности, при  $0,8 \times 10^4$  кл.·мл<sup>-1</sup> происходила выраженная стимуляция её роста. При начальных концентрациях  $1,6 \times 10^4$  и  $3,2 \times 10^4$  кл.·мл<sup>-1</sup> отмечено ингибирование роста *T. pseudonana*; эффект возрастал с повышением её начальной концентрации. Между тем в смешанной культуре *T. pseudonana* находилась в стационарной фазе роста, тогда как в монокультуре популяция входила в фазу отмирания. *T. pseudonana* оказывала ингибирующее влияние на рост *P. hasleana*, и численность *P. hasleana* в смешанной культуре к концу опыта была ниже таковой в монокультуре в 16 раз. Эксперимент с совместным культивированием микроводорослей *P. hasleana* и *T. pseudonana* показал, что на флуоресценцию хлорофилла *a* смеси оказывает большее воздействие та микроводоросль, концентрация которой значительно выше. Видоизменение кривых отдельных культур в смесях не происходит.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 21-74-30004.

**Благодарность.** Культуры микроводорослей *Pseudo-nitzschia hasleana* MBRU\_PH18 и *Thalassiosira pseudonana* MBRU\_TSP-02 (Bacillariophyta) предоставлены ресурсным центром «Морской биобанк» ННЦМБ ДВО РАН (<http://marbank.dvo.ru>).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Balzano S., Percopo I., Siano R., Gourvil P., Chanoine M., Marie D., Vaulot D., Sarno D. Morphological and genetic diversity of Beaufort Sea diatoms with high contributions from the *Chaetoceros neogracilis* species complex. *Journal of Phycology*, 2017, vol. 53, iss. 1, pp. 161–187. <https://doi.org/10.1111/jpy.12489>
2. Bates S. S., Bird C. J., de Freitas A. S. W., Foxall R., Gilgan M., Hanic L. A., Johnson G. R., McCulloch A. W., Odense P., Pocklington R.,

- Quilliam M. A., Sim P. G., Smith J. C., Subba Rao D. V., Todd E. C. D., Walter J. A., Wrigh J. L. C. Pennate diatom *Nitzschia pungens* as the primary source of domoic acid, a toxin in shellfish from eastern Prince Edward Island, Canada. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1989, vol. 46, no. 7, pp. 1203–1215. <https://doi.org/10.1139/f89-156>
3. Burkholder J. A. M., Glibert P. M., Skelton H. M. Mixotrophy, a major mode of nutrition for harmful algal species in eutrophic waters. *Harmful Algae*, 2008, vol. 8, iss. 1, pp. 77–93. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2008.08.010>
  4. Cai Z., Zhu H., Duan S. Allelopathic interactions between the red-tide causative dinoflagellate *Prorocentrum donghaiense* and the diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *Oceanologia*, 2014, vol. 56, iss. 3, pp. 639–650. <https://doi.org/10.5697/oc.56-3.639>
  5. Cohen N. R., Ellis K. A., Lampe R. H., McNair H., Twining B. S., Maldonado M. T., Brzezinski M. A., Kuzminov F. I., Thamatrakoln K., Till C. P., Bruland K. W., Sunda W. G., Bargu S., Marchetti A. Diatom transcriptional and physiological responses to changes in iron bioavailability across ocean provinces. *Frontiers in Marine Science*, 2017, vol. 4, art. no. 360 (20 p.). <https://doi.org/10.3389/fmars.2017.00360>
  6. Guillard R. R. L., Ryther J. H. Studies of marine planktonic diatoms: I. *Cyclotella nana* Hustedt, and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Canadian Journal of Microbiology*, 1962, vol. 8, no. 2, pp. 229–239. <https://doi.org/10.1139/m62-029>
  7. Harris A. S. D., Medlin L. K., Lewis J., Jones K. J. *Thalassiosira* species (Bacillariophyceae) from a Scottish sea-loch. *European Journal of Phycology*, 1995, vol. 30, iss. 2, pp. 117–131. <https://doi.org/10.1080/09670269500650881>
  8. Hillebrand H., Dürselen C. D., Kirschtel D., Pollinger U., Zohary T. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology*, 1999, vol. 35, iss. 2, pp. 403–424. <https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.1999.3520403.x>
  9. Huang C., Lin X., Lin J., Du H., Dong Q. Population dynamics of *Pseudo-nitzschia pungens* in Zhelin Bay, China. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 2009, vol. 89, iss. 4, pp. 663–668. <https://doi.org/10.1017/S0025315408002919>
  10. Hulot F., Huisman J. Allelopathic interactions between phytoplankton species: The roles of heterotrophic bacteria and mixing intensity. *Limnology and Oceanography*, 2004, vol. 49, iss. 4, pt 2, pp. 1424–1434. [https://doi.org/10.4319/lo.2004.49.4\\_part\\_2.1424](https://doi.org/10.4319/lo.2004.49.4_part_2.1424)
  11. Hutchinson G. E. The paradox of the plankton. *The American Naturalist*, 1961, vol. 95, no. 882, pp. 137–145. <https://doi.org/10.1086/282171>
  12. Felpeto A. B., Śliwińska-Wilczewska S., Klin M., Konarzewska Z., Vasconcelos V. Temperature-dependent impacts of allelopathy on growth, pigment, and lipid content between a subpolar strain of *Synechocystis* sp. CCBA MA-01 and coexisting microalgae. *Hydrobiologia*, 2019, vol. 835, iss. 1, pp. 117–128. <https://doi.org/10.1007/s10750-019-3933-8>
  13. Ianora A., Bentley M. G., Caldwell G. S., Cossotti R., Cembella A. D., Engström-Öst J., Halsband C., Sonnenschein E., Legrand C., Llewellyn C. A., Paldavičienė A., Pilkaityte R., Pohnert G., Razinkovas A., Romano G., Tillmann U., Vaiciute D. The relevance of marine chemical ecology to plankton and ecosystem function: An emerging field. *Marine Drugs*, 2011, vol. 9, iss. 9, pp. 1625–1648. <https://doi.org/10.3390/md9091625>
  14. Lelong A., Hégaret H., Soudant P., Bates S. S. *Pseudo-nitzschia* (Bacillariophyceae) species, domoic acid and amnesic shellfish poisoning: Revisiting previous paradigms. *Phycologia*, 2012, vol. 51, iss. 2, pp. 168–216. <https://doi.org/10.2216/11-37.1>
  15. Lima-Mendez G., Faust K., Henry N., Decelle J., Colin S., Carcillo F., Chaffron S., Ignacio-Espinosa J. C., Roux S., Vincent F., Bittner L., Darzi Y., Wang J., Audic S., Berline L., Bontempi G., Cabello A. M., Coppola L., Cornejo-Castillo F. M., D'Ovidio F., de Meester L., Ferrera I., Garet-Delmas M.-J., Guidi L., Lara E., Pesant S., Royo-Llonch M., Alazar G., Sánchez P., Sebastian M., Souffreau C., Dimier C., Picheral M., Searson S., Kandels-Lewis S., Tara Oceans Coordinators, Gorsky G., Not F., Ogata H., Speich S., Stemmann L., Weisenbach J., Wincker P., Acinas S. G., Sunagawa S., Bork P., Sullivan M. B., Karsenti E., Bowler C., de Vargas C., Raes J. Determinants of community structure in the global plankton interactome. *Science*, 2015, vol. 348, no. 6237, art. no. 1262073 (10 p.). <https://doi.org/10.1126/science.1262073>

16. Long M., Tallec K., Soudant P., Le Grand F., Donval A., Lambert C., Sarthou G., Jolley D. F., Hégarret H. Allelochemicals from *Alexandrium minutum* induce rapid inhibition of metabolism and modify the membranes from *Chaetoceros muelleri*. *Algal Research*, 2018, vol. 35, pp. 508–518. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.09.023>
17. Louw D. C., Doucette G. J., Voges E. Annual patterns, distribution and long-term trends of *Pseudo-nitzschia* species in the northern Benguela upwelling system. *Journal of Plankton Research*, 2017, vol. 39, iss. 1, pp. 35–47. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbw079>
18. Lundholm N., Hansen P. J., Kotaki Y. Lack of allelopathic effects of the domoic acid-producing marine diatom *Pseudo-nitzschia multiseriis*. *Marine Ecology Progress Series*, 2005, vol. 288, pp. 21–33. <https://doi.org/10.3354/meps288021>
19. Mardones J. I. Screening of Chilean fish-killing microalgae using a gill cell-based assay. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 2020, vol. 48, iss. 2, pp. 329–335. <https://dx.doi.org/10.3856/vol48-issue2-fulltext-2400>
20. Mikheev M. A., Ipatova V. I., Spirikina N. E. Biotic interactions between two species of microalgae in mixed culture. *Moscow University Biological Sciences Bulletin*, 2018, vol. 73, iss. 2, pp. 63–68. <https://doi.org/10.3103/S0096392518020062>
21. Orlova T. Yu., Stonik I. V., Shevchenko O. G. Flora of planktonic microalgae of Amursky Bay, Sea of Japan. *Russian Journal of Marine Biology*, 2009, vol. 35, iss. 1, pp. 60–78. <https://doi.org/10.1134/S106307400901009X>
22. Patil V., Abate R., Wu W., Zhang J., Lin H., Chen C., Liang J., Sun L., Li X., Li Y., Gao Y. Allelopathic inhibitory effect of the macroalga *Pyropia haitanensis* (Rhodophyta) on harmful bloom-forming *Pseudo-nitzschia* species. *Marine Pollution Bulletin*, 2020, vol. 161, pt A, art. no. 111752 (12 p.). <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111752>
23. Phatarpekar P. V., Sreepada R. A., Pednekar C., Achuthankutty C. T. A comparative study on growth performance and biochemical composition of mixed culture of *Isochrysis galbana* and *Chaetoceros calcitrans* with monocultures. *Aquaculture*, 2000, vol. 181, iss. 1–2, pp. 141–155. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00227-6](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00227-6)
24. Pichierrri S., Accoroni S., Pezzolesi L., Gueririni F., Romagnoli T., Pistocchi R., Totti C. Allelopathic effects of diatom filtrates on the toxic benthic dinoflagellate *Ostreopsis* cf. *ovata*. *Marine Environmental Research*, 2017, vol. 131, pp. 116–122. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2017.09.016>
25. Popik A., Gamayunov E., Voznesenskiy S., Markina Zh., Orlova T. The study of fluorescence features of microalgae from the genus *Pseudo-nitzschia* and the possibility of their detection in water. *Algal Research*, 2022, vol. 64, art. no. 102662 (10 p.). <https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102662>
26. Poulin R. X., Poulson-Ellestad K. L., Roy J. S., Kubanek J. Variable allelopathy among phytoplankton reflected in red tide metabolome. *Harmful Algae*, 2018, vol. 71, pp. 50–56. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2017.12.002>
27. Prasetya F. S., Safitri I., Widowati I., Cognie B., Decottignies P., Gastineau R., Morançais M., Windarto E., Tremblay R., Mouget J. L. Does allelopathy affect co-culturing *Haslea ostrearia* with other microalgae relevant to aquaculture? *Journal of Applied Phycology*, 2016, vol. 28, iss. 4, pp. 2241–2254. <https://doi.org/10.1007/s10811-015-0779-y>
28. Sobrinho B. F., De Camargo L. M., Sandrini-Neto L., Kleemann C. R., da Costa Machado E., Mafra L. L. Growth, toxin production and allelopathic effects of *Pseudo-nitzschia multiseriis* under iron-enriched conditions. *Marine Drugs*, 2017, vol. 15, iss. 10, art. no. 331 (16 p.). <https://doi.org/10.3390/md15100331>
29. Tan K., Huang Z., Ji R., Qiu Y., Wang Z., Liu J. A review of allelopathy on microalgae. *Microbiology*, 2019, vol. 165, iss. 6, pp. 587–592. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000776>
30. TERNON E., PAVAUX A. S., MARRO S., THOMAS O. P., LEMÉE R. Allelopathic interactions between the benthic toxic dinoflagellate *Ostreopsis* cf. *ovata* and a co-occurring diatom. *Harmful Algae*, 2018, vol. 75, pp. 35–44. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2018.04.003>
31. Trainer V. L., Bates S. S., Lundholm N., Thessen A. E., Cochlan W. P., Adams N. G., Trick C. G. *Pseudo-nitzschia* physiological ecology, phylogeny, toxicity, monitoring and impacts on ecosystem health. *Harmful Algae*, 2012, vol. 14, pp. 271–300. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2011.10.025>
32. Voznesenskiy S. S., Gamayunov E. L., Popik A. Y.,

- Markina Zh. V., Orlova T. Yu. Temperature dependence of the parameters of laser-induced fluorescence and species composition of phytoplankton: The theory and the experiments. *Algal Research*, 2019, vol. 44, art. no. 101719 (11 p.). <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101719>
33. Yamasaki Y., Shikata T., Nukata A., Ichiki S., Nagasoe S., Matsubara T., Shimasaki Y., Nakao M., Yamaguchi K., Oshima Y., Oda T., Ito T., Jenkinson I. R., Asakawa M., Honjo T. Extracellular polysaccharide-protein complexes of a harmful alga mediate the allelopathic control it exerts within the phytoplankton community. *The ISME Journal*, 2009, vol. 3, iss. 7, pp. 808–817. <https://doi.org/10.1038/ismej.2009.24>
  34. Yamasaki Y., Nagasoe S., Matsubara T., Shikata T., Shimasaki Y., Oshima Y., Honjo T. Allelopathic interactions between the bacillariophyte *Skeletonema costatum* and the raphidophyte *Heterosigma akashiwo*. *Marine Ecology Progress Series*, 2007, vol. 339, pp. 83–92. <https://doi.org/10.3354/meps339083>
  35. Yasakova O. N. The seasonal dynamics of potentially toxic and harmful phytoplankton species in Novorossiysk Bay (Black Sea). *Russian Journal of Marine Biology*, 2013, vol. 39, iss. 2, pp. 107–115. <https://doi.org/10.1134/S1063074013020090>
  36. Xu N., Tang Y. Z., Qin J., Duan S., Gobler C. J. Ability of the marine diatoms *Pseudo-nitzschia multiseriata* and *P. pungens* to inhibit the growth of co-occurring phytoplankton via allelopathy. *Aquatic Microbial Ecology*, 2015, vol. 74, no. 1, pp. 29–41. <https://doi.org/10.3354/ame01724>
  37. Zhao M., Chen X., Ma N., Zhang Q., Qu D., Li M. Overvalued allelopathy and overlooked effects of humic acid-like substances on *Microcystis aeruginosa* and *Scenedesmus obliquus* competition. *Harmful Algae*, 2018, vol. 78, pp. 18–26. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2018.07.003>
  38. Zheng J.-W., Li D.-W., Lu Y., Chen J., Liang J.-J., Zhang L., Yang W.-D., Liu J.-S., Lu S.-H., Li H.-Y. Molecular exploration of algal interaction between the diatom *Phaeodactylum tricoratum* and the dinoflagellate *Alexandrium tamarense*. *Algal Research*, 2016, vol. 17, pp. 132–141. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.04.019>

**INTERACTIONS OF THE DIATOM ALGAE  
PSEUDO-NITZSCHIA HASLEANA AND THALASSIOSIRA PSEUDONANA  
IN THE MIXED CULTURE**

**Zh. V. Markina<sup>1</sup> and A. Yu. Popik<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>A. V. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology, FEB RAS, Vladivostok, Russian Federation

<sup>2</sup>Institute of Automation and Control Processes, FEB RAS, Vladivostok, Russian Federation

E-mail: [zhannav@mail.ru](mailto:zhannav@mail.ru)

Representatives of the genus *Pseudo-nitzschia* (Bacillariophyta) cause blooms in different areas of the World Ocean. Therefore, it is necessary to know their ecological features, including the way those interact with other species of unicellular algae. Moreover, for rapid identification of these algae in the environment, a certain technique is needed. Thus, we assessed the dynamics of cell abundance for *Pseudo-nitzschia hasleana* and *Thalassiosira pseudonana* in mono- and mixed cultures by their direct counting in a Nageotte chamber. Temperature curves of chlorophyll *a* fluorescence obtained by laser-induced fluorescence in a temperature chamber were also analyzed. The experiments lasted for 14 days. As shown, *P. hasleana* had different effect on *T. pseudonana* depending on initial abundance of *T. pseudonana*. At initial concentration of  $0.8 \times 10^4$  cells·mL<sup>-1</sup>, a pronounced stimulation of the growth of this diatom occurred. At initial concentrations of  $1.6 \times 10^4$  and  $3.2 \times 10^4$  cells·mL<sup>-1</sup>, *T. pseudonana* growth was inhibited. In the mixed culture, *T. pseudonana* remained at the stationary growth phase, while in a monoculture, the population entered the dying phase by the 14<sup>th</sup> day of the experiment. *T. pseudonana* had an inhibitory effect on *P. hasleana* growth. The experiment with *P. hasleana* and *T. pseudonana* co-cultivation showed as follows: chlorophyll *a* fluorescence of the mixture is more affected by the microalga with much higher concentration. The fluorescent signal of two separately cultivated monocultures can potentially be used to search for these cultures in a mixture.

**Keywords:** *Pseudo-nitzschia hasleana*, *Thalassiosira pseudonana*, allelopathy, chlorophyll *a* fluorescence, microalgae identification