ISSN 2658-3518

Special Issue

LIMNOLOGY & FRESHWATER BIOLOGY

VIII All-Russian Scientific Conference with international participation «Algae: Problems of Taxonomy and Ecology, Use in Monitoring and Biotechnology»

2026, № 4

> abiotic and biotic water components;
> ecosystem-level studies;
> systematics and aquatic ecology;
> paleolimnology and environmental histories;
> laboratory experiments and modeling

Preface

Likhoshway Ye.V.*

Limnological Institute Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Ulan-batorskaya Str., 3, Irkutsk, 664033, Russia

Dear colleagues,

This special issue of the journal *Limnology and Freshwater Biology* is dedicated to the proceedings of the VIII All-Russian Scientific Conference with International Participation "Algae: Problems of Taxonomy and Ecology, Application in Monitoring and Biotechnology," organized by the Limnological Institute of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Irkutsk in the settlement of Listvyanka (Irkutsk) on September 7–11, 2026.

This conference is a continuation of the meetings of phycologists held under the auspices of the Russian Academy of Sciences over the past 20 years, at intervals of two to five years.

The I All-Russian scientific and practical conference entitled "Algological research: current status and future prospects" was held in Ufa at the Bashkir State University on November 16-18, 2006.

The II All-Russian scientific and practical conference was renamed to "Algae: problems of taxonomy, ecology and use in monitoring" and was held in Syktyvkar on October 5-9, 2009, at the Institute of Biology of the Komi Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences with the participation of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, the Russian Botanical Society and the Russian Foundation for Basic Research.

The III conference became international and was called the International Scientific Conference and School for Young Scientists "Algae: Problems of Taxonomy, Ecology, and Use in Monitoring." It was held on August 25-29, 2014, in Borok, Yaroslavl Oblast. The I.D. Papanin Institute of Biology of Inland Waters of the Russian Academy of Sciences and the A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution Problems participated in the realization of the conference, as well as the Scientific Council for Hydrobiology and Ichthyology of the Russian Academy of Sciences, the Hydrobiological Society of the Russian Academy of Sciences, the Russian Botanical Society, the Russian Foundation for Basic Research, and the Department of Environmental Protection and Nature Management of the Yaroslavl Oblast.

The IV All-Russian Scientific Conference with International Participation, "Algae: Problems of Taxonomy, Ecology, and Use in Monitoring," was held on September 24-28, 2018, in St. Petersburg at the Komarov Botanical Institute. The conference was timed to coincide with the 110th anniversary of the birth of the eminent Russian algologist M.M. Gollerbach. The St. Petersburg Branch of the Russian Academy of Sciences, the Russian Botanical Society, and the Russian Foundation for Basic Research also contributed to the conference's organization.

The V All-Russian Scientific Conference with International Participation, "Algae: Problems of Taxonomy, Ecology, and Use in Monitoring," was held on September 20-25, 2021, in Nizhny Novgorod. It was dedicated to the memory of V.I. Esyreva, a renowned Russian algologist and founder of the Nizhny Novgorod school of algology. The conference was organized by the Department of Botany and Zoology at the Institute of Biology and Biomedicine of Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod. In addition to Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, the conference organizers and partners included the Ministry of Ecology and Natural Resources of the Nizhny Novgorod Region, the Nizhny Novgorod branches of the Russian Botanical Society, and the Hydrobiological Society of the Russian Academy of Sciences.

The VI All-Russian Scientific Conference with International Participation and School for Young Scientists, under the expanded title "Algae: Problems of Taxonomy and Ecology, Application in Monitoring and Biotechnology," was held on September 12-18, 2022, at the Zvenigorod Biological Station of Lomonosov Moscow State University. The event was organized by a team of staff from Lomonosov Moscow State University and the Timiryazev Institute of Plant Physiology of the Russian Academy of Sciences.

*Corresponding author.
E-mail address: yel@lin.irk.ru (Ye.V. Likhoshway)

© Author(s) 2026. This work is distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

The VII All-Russian Scientific Conference with International Participation, “Algae: Problems of Taxonomy and Ecology, Application in Monitoring and Biotechnology,” dedicated to the 300th anniversary of the Russian Academy of Sciences, was organized by the Federal Scientific Center for Biodiversity, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences (Vladivostok) and held on September, 16–20, 2024, at the Marine Biological Station “Vostok” of the National Scientific Center for Marine Biology, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences (NSCMB), Livadiya, Primorsky Krai. It was decided to hold the next conference on Lake Baikal.

At the VIII Conference of Phycologists, modern trends in the study of cyanobacteria, microalgae, and macrophytes from freshwater, marine, and soil ecosystems were examined during the following sessions: Current issues of algology, Algal diversity in geographically distant and ecologically diverse waterbodies, Phytoplankton in water bodies of different types: species assemblage and indicator properties, Cyanobacteria and algae within natural communities: Recent findings, Life cycle, molecular phylogeny, Biotechnological potential and practical applications of cyanobacteria and algae, Cultivation of cyanobacteria and microalgae, biologically active substances, Modern methods for monitoring the taxonomic diversity of algae. Molecular genetic analysis and metabarcoding.

This special issue of the journal presents articles covering all these areas. The pressing issue of applying artificial intelligence technologies in phycology has also been addressed.

I would like to express my gratitude to the authors and reviewers for their work. I hope you find the material useful and look forward to further fruitful discussions regarding the content presented here.

Yelena V. Likhoshway
Chair of the Conference Organizing Committee
Doctor of Biological Sciences, Professor

Предисловие

Лихошвай Е.В.*

Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук ул. Улан-Баторская, 3, Иркутск, 664033, Россия

Уважаемые коллеги!

Спецвыпуск журнала *Limnology and Freshwater Biology* посвящен трудам VIII Всероссийской научной конференции с международным участием «Водоросли: проблемы таксономии и экологии, использование в мониторинге и биотехнологии», которая организована Лимнологическим институтом Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, 7-11 сентября 2026 г. в пос. Листвянка.

Эта конференция является продолжением собраний альгологов, которые проходят под эгидой Российской академии наук в течение 20 лет с периодичностью в два-пять лет.

I Всероссийская научно-практическая конференция под названием «Альгологические исследования: современное состояние и перспективы на будущее» проходила в Уфе на базе Башкирского государственного университета 16-18 ноября 2006 г.

II Всероссийская научно-практическая конференция изменила название на «Водоросли: проблемы таксономии, экологии и использования в мониторинге» и проходила в Сыктывкаре 5-9 октября 2009 г. в Институте биологии Коми Научного центра Уральского отделения РАН при участии Уральского отделения РАН, Русского ботанического общества и РФФИ.

III конференция стала международной и называлась Международная научная конференция и школа для молодых ученых «Водоросли: проблемы таксономии, экологии и использования в мониторинге», проходила 25-29 августа 2014 г. в Борке Ярославской обл. В ее проведении приняли участие Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН и Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова, а также Научный совет по гидробиологии и ихтиологии РАН, Гидробиологическое общество при РАН, Русское ботаническое общество, РФФИ и Департамент охраны окружающей среды и природопользования Ярославской области.

IV Всероссийская научная конференция с международным участием «Водоросли: проблемы таксономии, экологии и использование в мониторинге» состоялась 24-28 сентября 2018 г. в Санкт-Петербурге в стенах Ботанического института им. В.Л. Комарова. Конференция была приурочена к 110-летию выдающегося российского альголога М.М. Голлербаха. В организации конференции также участвовали Санкт-Петербургское отделение РАН, Русское ботаническое общество и РФФИ.

V Всероссийская научная конференция с международным участием «Водоросли: проблемы таксономии, экологии и использования в мониторинге» проходила 20-25 сентября 2021 г. в Нижнем Новгороде и была посвящена памяти известного российского альголога, основателя нижегородской альгологической школы, В.И. Есыревой. Конференция была организована коллективом кафедры ботаники и зоологии Института биологии и биомедицины Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского. В число организаторов и партнеров конференции кроме ННГУ им. Н.И. Лобачевского входили Министерство экологии и природных ресурсов Нижегородской области, Нижегородские отделения Русского ботанического общества и Гидробиологического общества РАН.

VI Всероссийская научная конференция с международным участием и школа молодых ученых, под расширенным названием «Водоросли: проблемы таксономии и экологии, использование в мониторинге и биотехнологии», проходила 12-18 сентября 2022 г. на базе Звенигородской биологической станции МГУ имени М.В. Ломоносова. Организаторами были коллектив сотрудников МГУ имени М.В. Ломоносова и Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН.

VII Всероссийская научная конференция с международным участием «Водоросли: проблемы

*Автор для переписки.
Адрес e-mail: yel@lin.irk.ru (Е.В. Лихошвай)

© Автор(ы) 2026. Эта работа распространяется под международной лицензией Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.

таксономии и экологии, использование в мониторинге и биотехнологии», приуроченная к 300-летию РАН, была организована ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН (Владивосток) и прошла 16-20 сентября 2024 г. на базе Морской биологической станции «Восток» ННЦМБ ДВО РАН, пос. Ливадия, Приморский край.

На очередной, VIII, конференции альгологов рассмотрены современные направления изучения цианобактерий, микроводорослей и макрофитов из пресноводных, морских и почвенных экосистем на секциях: «Актуальные вопросы альгологии», «Биологическое разнообразие водорослей в географически удаленных разнохарактерных водоемах», «Фитопланктон в разнохарактерных водоемах. Видовая структура и индикаторные свойства», «Цианобактерии и водоросли в природных сообществах. Новые находки», «Жизненный цикл, молекулярная филогения», «Биотехнологический потенциал и практическое применение цианобактерий и водорослей», «Культивирование цианобактерий и микроводорослей, биологически активные вещества», «Современные методы для мониторинга таксономического разнообразия водорослей. Молекулярно-генетический анализ и метабаркодирование». Представленный вашему вниманию спецвыпуск журнала охватывает статьи по всем этим направлениям. Не остался без внимания и животрепещущий вопрос применения технологий искусственного интеллекта в альгологии.

Выражаю благодарность авторам и рецензентам за проделанную работу. Желаю полезного прочтения и дальнейших плодотворных дискуссий представленных материалов.

Председатель оргкомитета Конференции
Доктор биологических наук, профессор
Е.В. Лихошвай

Original Article
LIMNOLOGY FRESHWATER BIOLOGY

Relationship between the quantitative development of phytoplankton and environmental factors in lakes of different trophic status in the Belarusian Lakeland

Karpaeva A.Yu.

State Scientific and Production Association "Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Bioresources", 27 Akademicheskaya St., Minsk, 220072, Belarus

ABSTRACT. This study examined 11 lakes of the Belarusian Lakeland, encompassing the range from mesotrophic lakes with oligotrophic features to highly eutrophic systems, to evaluate the impact of abiotic factors on the quantitative development of phytoplankton. Sampling was carried out during the growing seasons of 2023–2025 using standard hydrobiological and hydrochemical methods. Phytoplankton biomass showed an increase from 0.46–0.85 mg/L in mesotrophic lakes with oligotrophic features to 22.7–46.75 mg/L in hypereutrophic lakes. Among environmental factors, nitrogen compounds exerted the strongest influence, particularly nitrate nitrogen (r_s up to 0.7; $p < 0.001$), while the role of total phosphorus was less pronounced. The analysis did not consider the concentration of phosphate ions ($P–PO_4$) because it was mostly below the analytical detection limit, and the number of measurements with non-zero values was insufficient for statistically robust conclusions. Redundancy analysis (RDA) revealed that the combined effect of environmental factors explained up to 55% of the variation in phytoplankton, with the trophic gradient being the dominant driver. Both nitrate and ammonium nitrogen contributed significantly to phytoplankton development; however, the effect of nitrate nitrogen was more pronounced. This was likely due to the rapid uptake and oxidation of NH_4^+ under conditions of high oxygen concentration, which complicates the evaluation of its impact, whereas nitrate was consumed more slowly, allowing for a more reliable statistical evaluation of its role. The obtained results refine our understanding of the role of different nitrogen forms in shaping the productive state of lakes and may be applied in assessing their trophic status.

Keywords: phytoplankton, trophic status, lakes, total phosphorus, nitrate nitrogen, ammonium

For citation: Karpaeva A.Yu. Relationship between the quantitative development of phytoplankton and environmental factors in lakes of different trophic status in the Belarusian Lakeland // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - P. 212-220. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-212

1. Introduction

Phytoplankton, as primary producers in aquatic ecosystems, play a crucial role in nutrient cycling, energy transfer, and the stability of aquatic ecosystems (Leng et al., 2024).

Freshwater phytoplankton communities are highly sensitive to a wide range of environmental variables (e.g., nutrients, light, temperature, and mixing), and therefore can serve as effective early indicators of changes in the structure and functioning of lake ecosystems (Filiz et al., 2020).

Numerous studies have demonstrated that both quantitative characteristics and taxonomic composition of phytoplankton are closely related to the trophic status of water bodies and to a complex of external drivers. Key factors for regulation phytoplankton development include water temperature (Leng et al., 2024), transparency (Gong et al., 2022; Kalinkina et al., 2024), dissolved oxygen content, pH (Zhu et al., 2021; Tsybekmitova et al., 2021), and concentrations of nutrients (Leng et al., 2024; Oğuz et al., 2020), particularly phosphorus (P) (Vollenweider, 1968; Schindler, 1977; Reynolds, 2006), which is traditionally considered the primary limiting element in freshwater ecosystems.

However, in some water bodies, especially under conditions of high phosphorus loading, nitrogen may become the limiting factor, as confirmed by previous studies (Smith, 1982; Guildford and Hecky, 2000). Thus, the dominant limiting role between these two nutrients remains context-dependent and cannot be answered unambiguously.

*Corresponding author. E-mail address: karpaevanastya1@gmail.com (A.Yu. Karpaeva)

Received: April 26, 2026;
Accepted after revised: June 19, 2026;
Available online: August 28, 2026

© Author(s) 2026. This work is distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

Despite the widely recognized importance of these nutrients as key drivers of eutrophication, many studies indicate that the relative importance of limiting factors may vary depending on trophic conditions and season. In some cases, temperature, light availability, or other hydrochemical parameters may play a more decisive role than nutrient concentrations.

Existing approaches to assessing environmental effects on phytoplankton are often limited either to experimental conditions or to specific local lakes. This constrains our ability to fully understand the role of changes in individual factors along a trophic gradient. In the present study, we attempt to address this gap by investigating lakes of the Belarusian Lakeland that differ in trophic status.

Thus, the aim of this study is to evaluate which environmental factors most strongly influence the quantitative development of phytoplankton in lakes with different trophic statuses in the Belarusian Lakeland.

Understanding these mechanisms is essential both for predicting eutrophication processes and for developing approaches to diagnosing trophic status based on the relationship between key abiotic parameters and phytoplankton community structure.

2. Materials and methods

2.1. Study Area

The Belarusian Lakeland is a geomorphological region in northern Belarus that contains the majority of the country's lakes (474 in total). The total surface area of these lakes reaches ~2000 km², with a total water volume of ~6 km³ (Vlasov, 2004).

The selection of study sites focused on covering a wide range of trophic conditions. The dataset included (Fig. 1): mesotrophic lakes with oligotrophic features (Krivoe "55.159630, 29.022555", Volos North "55.750034, 27.128764", Volos South "55.74172583, 27.13406265"); mesotrophic lakes (Vechelye "55.146131, 28.626658", Obsterno "55.609985, 27.374020"); eutrophic lakes (Potekh "55.685406, 27.166407", Otolovo "55.148056, 28.930657", Gorushka "55.6359, 27.3466"); and highly eutrophic water bodies subjected to significant anthropogenic pressure (Ilmenok "55.6798, 27.1881", Velikoe "55.155103, 27.675684", Cherstvyatskoe "55.200986, 28.853959").

The morphometric characteristics of the lakes are presented in Table 1.

2.2. Phytoplankton sampling

Sampling was carried out from May to September in 2023–2025. Samples from four lakes of the Usacy group (Lakes Cherstvyatskoe, Vechelye, Otolovo, and Krivoe) were collected three times during 2023: in the late spring, summer, and late summer periods.

Samples from five lakes of the Braslav group (Lakes Potekh, Gorushka, Obsterno, Volos North, and Volos South) were collected during the same periods in 2024. Samples from the hypereutrophic lakes Ilmenok and Velikoe were collected in the late spring, summer, and late summer periods of 2025.

Water samples were collected using an 8 L Molchanov bathometer sequentially from the surface layer, Secchi depth, and twice the Secchi depth, followed by mixing into an integrated sample. The samples were fixed with Utermöhl's solution. Phytoplankton was concentrated by sedimentation from an initial volume of 0.5 L. Overall, 66 phytoplankton samples were collected and analyzed.

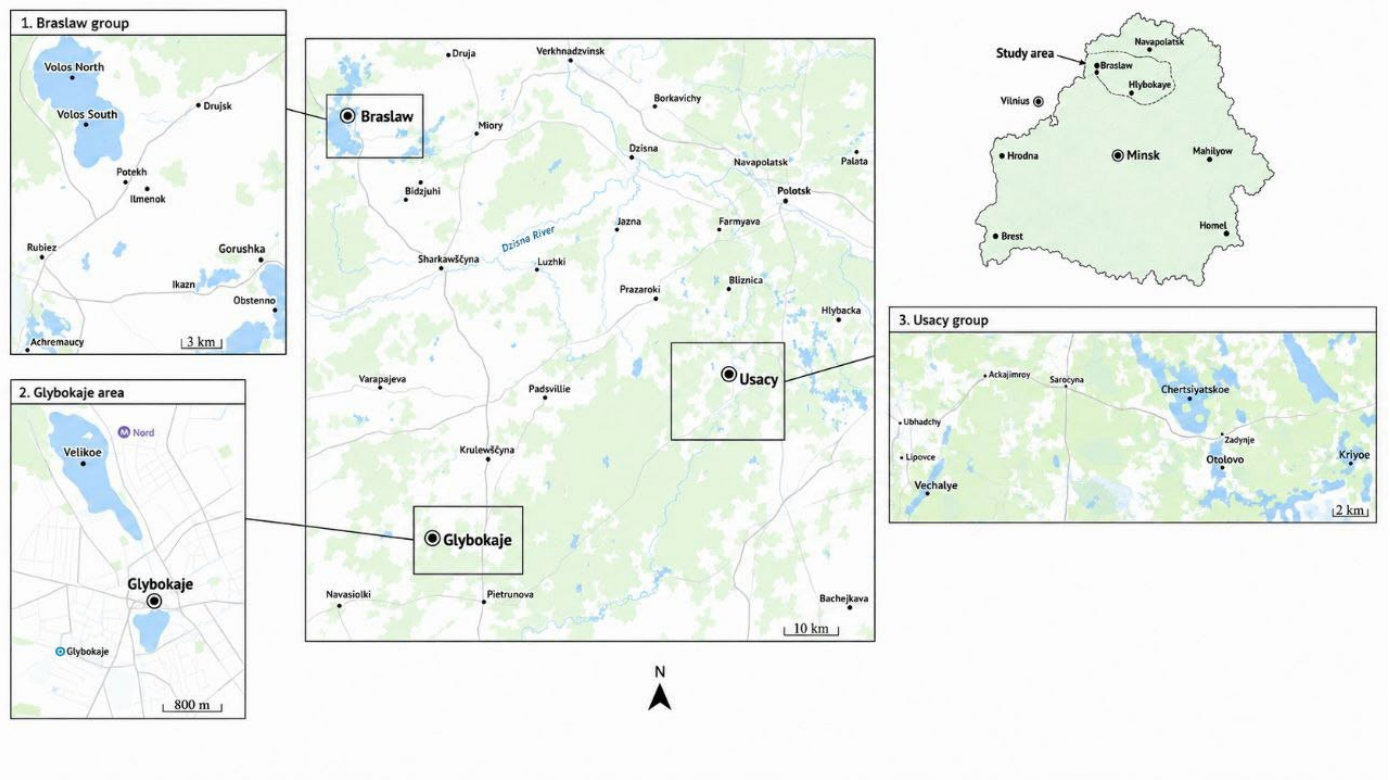


Fig.1. Lakes of different trophic statuses in the Belarusian Lakeland.

Table 1. Morphometric characteristics of lakes with different trophic statuses in the Belarusian Lakeland.

Lake	Surface area, km²	Lake volume, km³	Maximum depth, m	Mean depth, m	Transparency, m
Chertsvyatskoe	9.93	0.021	4.30	2.20	0.70
Vechelye	1.36	0.025	35.90	18.50	2.37
Otolovo	8.2	0.028	16.40	3.50	2.67
Krivoe	4.5	0.043	31.50	9.60	5.17
Potekh	1.35	0.452	9.10	3.50	1.20
Gorushka	0.18	0.0005	6.90	2.80	1.83
Obsterno	9.89	0.05	12.00	5.10	2.37
Volos North	4.21	0.031	29.20	7.30	5.27
Volos South	1.21	0.015	40.40	12.50	6.17
Ilmenok	0.21	0.0006	6.40	3.00	1.00
Velikoe	0.89	0.003	5.70	2.50	0.36

2.3. Hydrochemical parameters

Secchi depth (SD) was measured using a standard white Secchi disk (d = 30 cm). Water temperature was measured at all sampled depths using a mercury deep-water thermometer with a resolution of 0.1°C.

pH values were determined using a pH meter (model pH-986). Dissolved oxygen (O_2) concentrations were measured using a portable oximeter (HANNA HI 9143).

Total nitrogen (TN) concentration was determined after oxidation of unfiltered water samples with potassium persulfate in an autoclave. Total phosphorus (TP) was measured photometrically using potassium persulfate digestion.

Nitrate nitrogen ($N–NO_3$) was determined photometrically using salicylic acid. Ammonium nitrogen ($N–NH_4$) was determined using the hypochlorite method with salicylate in the presence of sodium nitroprusside.

In addition to these parameters, phosphate ($P–PO_4$), Kjeldahl nitrogen, and nitrite ($N–NO_2$) were also measured; however, their concentrations were frequently below detection limits, preventing statistically reliable correlation analysis.

2.4. Phytoplankton abundance and biomass

Phytoplankton abundance was determined using standard hydrobiological methods (Mordukhai-Boltovsky, 1975). Biomass was estimated using the cell volume method (Mikheyeva, 1989).

Species composition was analyzed using a light microscope (Carl Zeiss, model Axiostar Plus) at magnifications of ×100, ×200, and ×400.

Species identification was performed using both regional (Gollerbach and Savich, 1951–1983) and international taxonomic keys (Komárek and Anagnostidis, 2005).

The classification and arrangement of algal divisions followed the system adopted in the reference "Algal Flora of Belarus" (Mikheeva, 1999).

The trophic statuses of lakes were determined based on phytoplankton biomass values according to Kitaev (1984).

2.5. Statistical analysis

Relationships between biotic and abiotic parameters were assessed using Spearman's rank correlation coefficient.

To analyze the relationships between phytoplankton and environmental factors, redundancy analysis (RDA) was performed using Python and the NumPy, Scikit-learn, and SciPy libraries.

3. Results

3.1. General characteristics of the biotic and abiotic parameters of the studied lakes

Analysis of phytoplankton data revealed a clear relationship between biomass and the trophic status of the studied lakes (Table 2). Total phytoplankton biomass increased consistently with increasing trophic level of the water bodies.

Minimum biomass values ranged from 0.46 to 0.85 mg/L and were recorded in lakes with oligotrophic features (Volos North, Volos South, and Krivoe).

In mesotrophic and eutrophic lakes (Obsterno, Vechelye, Gorushka, Potekh, and Otolovo), total biomass ranged from 1.00 to 8.43 mg/L.

The highest biomass values were observed in highly eutrophic lakes: 22.7 mg/L in Lake Velikoe, 46.75 mg/L in Lake Ilmenok, and 48.65 mg/L in Lake Cherstvyatskoe.

Analysis of abiotic factors also revealed a wide range of values corresponding to the trophic gradient from mesotrophic lakes with oligotrophic features to highly eutrophic systems (Table 2).

Secchi depth (SD) decreased consistently from oligo-mesotrophic lakes (maximum 6.17 m in Lake Volos South) to highly eutrophic lakes (minimum 0.37 m in Lake Ilmenok), which is consistent with the concurrent increase in phytoplankton biomass.

Mean water temperature (t, °C) ranged from 11.0 to 16.9 °C. The highest values were recorded in shallow, highly eutrophic lakes Ilmenok and Velikoe, which can be explained by their morphometric charac-

Table 2. Mean values (± standard deviation) of phytoplankton parameters (abundance and biomass) and environmental variables (transparency (SD), temperature (°C), dissolved O_2, pH, TP, N–NH_4, and N–NO_2) for lakes of different trophic statuses in the Belarusian Lakeland.

Lake	N, $\times 10^6$ cells/L	B, mg/L	SD, m	t °C	O_2, mg/L	pH	TP, mg/L	N–NH_4, mg N / L	N–NO_3, mg N / L
Chertsvyatskoe (highly eutrophic lake)	171.9 ± 10.95	48.65 ± 14.9	0.7 + 0.00	15.2 ± 0.00	7.42 ± 0.00	8.03 ± 0.25	0.057 ± 0.007	0.063 ± 0.07	0.156 ± 0.068
Vechelye (mesotrophic lake)	10.26 ± 1.20	3.29 ± 1.24	2.37 ± 0.78	13.13 ± 1.58	10.96 ± 0.17	7.70 ± 0.50	0.049 ± 0.03	0.037 ± 0.013	0.26 ± 0.081
Otolovo (eutrophic lake)	18.44 ± 8.63	8.43 ± 3.84	2.67 ± 0.47	14.28 ± 0.55	10.66 ± 0.04	8.00 ± 0.36	0.027 ± 0.006	0.023 ± 0.012	0.065 ± 0.017
Krivoe (mesotrophic lake with oligotrophic features)	3.51 ± 0.92	0.85 ± 0.27	5.16 ± 0.24	11.03 ± 0.51	8.58 ± 0.15	8.00 ± 0.50	0.012 ± 0.0014	0.023 ± 0.018	0.033 ± 0.006
Potekh (eutrophic lake)	18.73 ± 12.9	6.29 ± 4.24	1.2 ± 0.08	14.48 ± 0.01	8.87 ± 0.95	7.47 ± 0.24	0.015 ± 0.01	0.0189 ± 0.0017	0.094 ± 0.016
Gorushka (eutrophic lake)	7.33 ± 3.48	4.85 ± 4.0	1.83 ± 0.12	15.4 ± 0.00	6.92 ± 0.00	7.3 ± 0.08	0.015 ± 0.006	0.023 ± 0.01	0.078 ± 0.005
Obsterno (mesotrophic lake)	3.25 ± 2.2	1.00 ± 0.78	2.37 ± 0.82	15.57 ± 0.97	7.92 ± 0.057	7.33 ± 0.12	0.022 ± 0.01	0.038 ± 0.02	0.075 ± 0.012
Volos North (mesotrophic lake with oligotrophic features)	3.98 ± 1.34	0.46 ± 0.16	5.27 ± 0.25	15.72 ± 0.00	7.72 ± 0.00	7.57 ± 0.17	0.009 ± 0.005	0.015 ± 0.0075	0.03 ± 0.012
Volos South (mesotrophic lake with oligotrophic features)	3.38 ± 1.19	0.69 ± 0.50	6.17 ± 0.24	13.62 ± 0.34	9.099 ± 0.17	7.63 ± 0.26	0.007 ± 0.003	0.015 ± 0.009	0.027 ± 0.013
Ilmenok (highly eutrophic lake)	17.98 ± 7.91	46.78 ± 56.30	0.37 ± 0.12	16.93 ± 4.29	8.65 ± 0.55	7.83 ± 0.77	0.26 ± 0.13	0.27 ± 0.16	1.54 ± 1.60
Velikoe (highly eutrophic lake)	66.81 ± 34.65	22.6 ± 8.01	0.87 ± 0.38	16.75 ± 3.86	9.24 ± 1.16	7.67 ± 0.33	0.36 ± 0.38	0.32 ± 0.15	1.77 ± 1.88

teristics: weak stratification and warming of the entire water column result in higher average temperatures. In deep stratified lakes (down to 30 m in depth), colder hypolimnetic layers in sampling lead to lower mean temperature values.

Dissolved oxygen concentrations ranged from 6.92 mg/L (Lake Gorushka) to 10.96 mg/L (Lake Vechelye). Notably, relatively low oxygen levels were observed in the deep mesotrophic lake with oligotrophic features, Lake Krivoe (8.58 mg/L), which may indicate stratification.

The pH values were generally slightly alkaline (7.3–8.03).

Nutrient concentrations exhibited the most pronounced trophic gradient. Total phosphorus (TP) increased from 0.007 mg/dm^3 (Lake Volos South) to 0.36 mg/dm^3 (Lake Velikoe), with an over 50-fold variation. Ammonium nitrogen (N–NH_4) and nitrate nitrogen (N–NO_3) followed a similar trend, reaching maximum values in the hypertrophic lakes Ilmenok and Velikoe (N–NH_4 up to 0.32 mg N/dm^3; N–NO_3 up to 1.77 mg N/dm^3).

3.2. Influence of environmental factors on the quantitative development of phytoplankton

Correlation analysis (Spearman's rank coefficient) revealed statistically significant relationships between quantitative phytoplankton indicators and physicochemical environmental parameters (Fig. 2).

The strongest positive relationship was observed between phytoplankton abundance and total biomass ($r_s = 0.94$; $p < 0.001$), indicating a synchronous variation of these parameters and suggesting that an increase in cell abundance is accompanied by a proportional increase in total community biomass.

One of the most pronounced patterns is the negative correlation between phytoplankton quantitative indicators and water transparency. The correlation coefficients were $r_s = –0.77$ ($p < 0.001$) for abundance and $r_s = –0.83$ ($p < 0.001$) for biomass. This indicates that increasing phytoplankton development is associated with decreasing water transparency, which is a typical pattern in freshwater ecosystems (Carlson, 1977; Brezonik et al., 2019).

Among chemical environmental factors, the most significant positive relationships were found between phytoplankton quantitative characteristics and nitrogen compounds. The highest correlation coefficients were obtained for nitrate nitrogen (N–NO_3): $r_s = 0.65$ ($p < 0.001$) for abundance and $r_s = 0.70$ ($p < 0.001$) for biomass.

Total phosphorus (TP) also showed positive correlations with phytoplankton quantitative indicators; however, these were slightly lower ($r_s = 0.58$; $p = 0.0004$ for abundance and $r_s = 0.65$; $p < 0.001$ for biomass).

An interesting feature is the difference in the strength of relationships between different forms of nitrogen and phytoplankton quantitative characteristics. Ammonium nitrogen (N–NH_4) demonstrated a statistically significant correlation mainly with phytoplankton biomass ($r_s = 0.41$, $p = 0.01$), whereas its

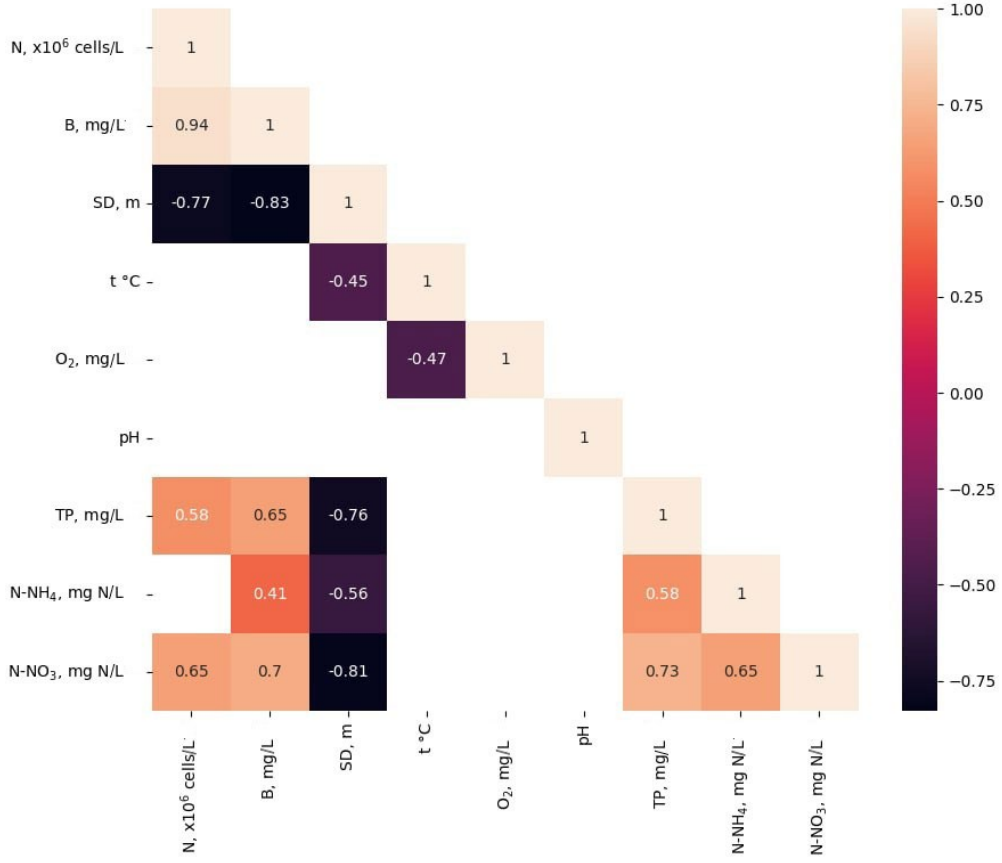


Fig.2. Correlation matrix relationships between quantitative phytoplankton characteristics and environmental factors.

relationship with abundance was much weaker and not statistically significant ($p = 0.052$).

At the same time, several environmental factors, including pH and dissolved oxygen concentration, did not show statistically significant correlations with phytoplankton quantitative indicators.

In addition to correlation analysis, redundancy analysis (RDA) was performed to assess the influence of environmental factors on phytoplankton quantitative characteristics. The constructed model for phytoplankton abundance and biomass yielded a coefficient of determination of $R^2 = 0.55$, indicating that the included hydrochemical and physical parameters explain ~55% of the variation in phytoplankton characteristics. The adjusted coefficient of determination was Adjusted $R^2 = 0.41$, which is expected when multiple predictors are used, indicating a relatively high explanatory power of the model for natural ecosystems.

Multicollinearity diagnostics showed that variance inflation factor (VIF) values for all environmental variables did not exceed 5, indicating the absence of strong intercorrelations among predictors and confirming the robustness of the model.

The RDA ordination diagram demonstrates that the first axis (RDA1) explains 79.1% of the variation, whereas the second axis (RDA2) accounts for 20.9%, indicating the dominant role of the primary ecological gradient (Fig. 3).

Analysis of the direction and length of environmental factor vectors indicates that the first axis represents a gradient of increasing trophic status of the water bodies. In the positive direction of RDA1, vectors of nitrate nitrogen ($N–NO_3$), ammonium nitrogen ($N–NH_4$), and total phosphorus (TP), as well as phytoplankton biomass and abundance, are oriented, indicating a positive relationship among these variables.

The relationship between phytoplankton biomass and nitrate concentration ($N–NO_3$) is particularly pronounced. Vector of ammonium nitrogen ($N–NH_4$) is oriented in a similar direction, suggesting a moderate influence of reduced nitrogen forms on phytoplankton development. Total phosphorus (TP) vector is also directed in the same direction; however, its shorter length and larger angle relative to phytoplankton variables indicate a comparatively weaker influence.

In contrast, vectors of water transparency (SD) and dissolved oxygen are oriented in the opposite direction along the first axis, indicating a negative relationship with phytoplankton biomass and abundance.

The distribution of lakes on the ordination diagram confirms a pronounced trophic gradient. Lakes in the lower-left part of the diagram are associated with the direction of transparency and dissolved oxygen vectors. These are primarily mesotrophic lakes (Obsterno and Vechelye) and mesotrophic lakes with oligotrophic features (Krivoe, Volos North, and Volos South). Their position reflects conditions of high transparency, relatively low nutrient concentrations, and low phytoplankton biomass, which are characteristic of such systems.

In the opposite part of the diagram are lakes associated with the vectors of nitrate, ammonium, and phosphorus, as well as with phytoplankton biomass and abundance. Their position indicates elevated nutrient concentrations and higher productivity, typical of some mesotrophic (especially in the late summer period) and eutrophic lakes.

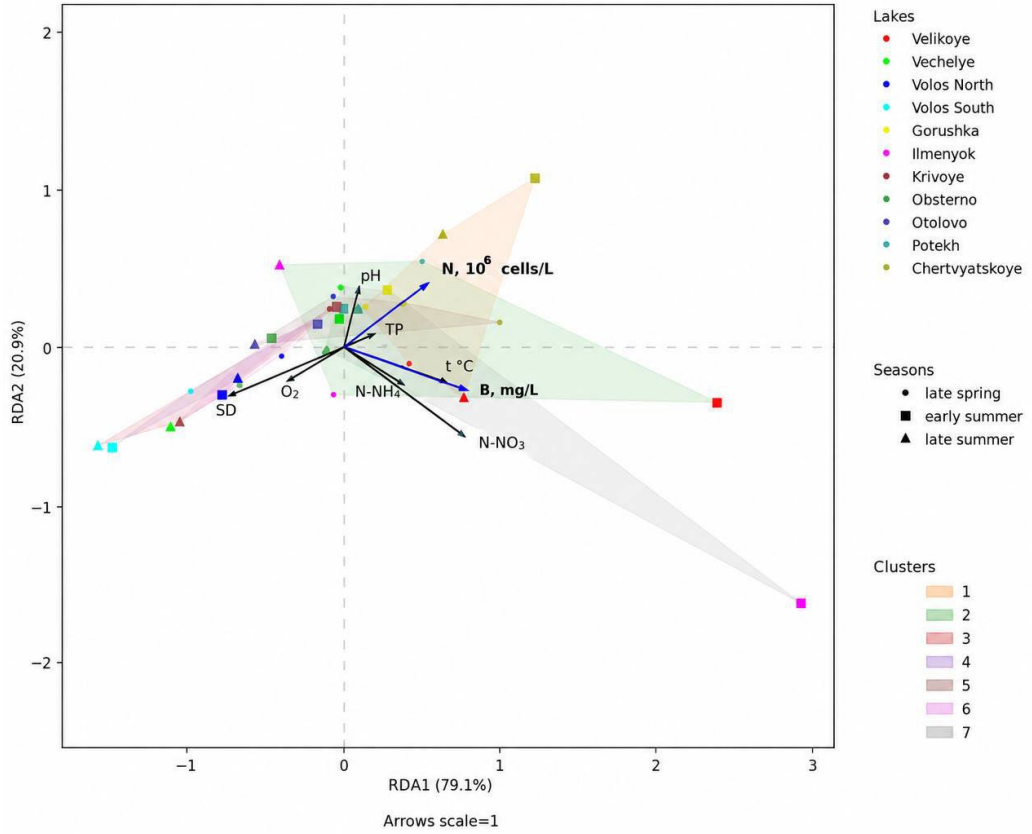


Fig.3. RDA ordination of lakes with different trophic statuses in the Belarusian Lakeland depending on environmental factors.

The second ordination axis explains a substantially smaller proportion of the variation (20.9%) and reflects additional differences among water bodies. The main factor associated with this gradient is pH, whose vector is oriented predominantly in the vertical direction. This suggests that acid–base conditions exert an additional influence on the distribution of phytoplankton quantitative characteristics; however, their role is considerably less pronounced compared to that of nutrients.

4. Discussion

The obtained results demonstrate that the influence of different forms of nutrients on phytoplankton development in the studied lakes varies significantly along the trophic gradient and, in some cases, deviates from the classical phosphorus-limitation paradigm.

According to the classical concepts of eutrophication by Vollenweider (1968) and Schindler (1977), phosphorus is considered the primary limiting nutrient in freshwater ecosystems. Indeed, in the studied lakes, an increase in total phosphorus (TP) from 0.007–0.012 mg/dm^3 in mesotrophic lakes with oligotrophic features to 0.26–0.36 mg/dm^3 in hypereutrophic systems is accompanied by an increase in phytoplankton biomass, which is consistent with classical theory, forming the basis of Carlson's trophic state index (Carlson, 1977). However, this relationship alone does not imply that TP remains the determining factor of phytoplankton variability across all conditions.

First, total phosphorus does not directly represent the bioavailable fraction of the element. As shown in fundamental studies (Rigler, 1973; Lean, 1973), there is often no direct functional relationship between TP and phytoplankton production rates, since a substantial portion of phosphorus exists in organic or particulate forms and is involved in slow internal cycling. In the studied lakes, this is supported by extremely low orthophosphate concentrations, indicating rapid uptake and maintenance of phytoplankton through regeneration processes rather than through the instantaneous TP pool.

Second, at high phosphorus concentrations, the system may reach saturation, where further increases in TP do not result in proportional increases in phytoplankton biomass. This effect was repeatedly reported in classical reviews (e.g., Smith, 1982; Hecky and Kilham, 1988), showing that under eutrophic and hypereutrophic conditions, limitation often shifts toward nitrogen or becomes co-limited. Thus, at high TP levels, its variability loses the controlling significance for phytoplankton production.

Third, internal phosphorus loading and rapid cycling play an important role. In shallow and productive lakes (such as Velikoe and Ilmenok), bottom sediments can act as a significant phosphorus source, compensating for low concentrations of dissolved forms in the water column (Wetzel, 2001). Under such conditions, phytoplankton effectively exists in an environment with a constant but "hidden" phosphorus supply, weakening statistical relationships between TP and biomass.

Thus, a combination of factors explains why TP does not act as the key driver of phytoplankton variability in the studied lakes.

Against this background, nitrogen becomes particularly important. Unlike phosphorus, its bioavailable forms, especially nitrates, show a stronger relationship with production characteristics. RDA results indicate that nitrate nitrogen ($N–NO_3$) contributes most to the variation in phytoplankton biomass and abundance, as evidenced by the longest vector aligned with productivity indicators.

This shift in limiting control from phosphorus to nitrogen is consistent with modern concepts of freshwater ecosystem functioning. Studies by Smith (1982), Guildford and Hecky (2000), and Elser et al. (2007) demonstrate that under high trophic conditions and phosphorus excess, nitrogen often becomes the limiting nutrient.

One key factor explaining this phenomenon is the rapid uptake of ammonium nitrogen by phytoplankton. According to Wetzel (2001), $N–NH_4$ is the most energetically favorable nitrogen form and is rapidly assimilated by algae. In conditions of high biomass, as observed in lakes Cherstvyatskoe, Velikoe, and Ilmenok (up to 48.65 mg/L), ammonium is intensively consumed and does not accumulate in the water column. This is confirmed by relatively moderate concentrations of $N–NH_4$ (0.27–0.32 mg N/dm^3) even under high trophic status.

An additional factor is the dominance of cyanobacteria, particularly species of the genus *Limnothrix* (M.-E. Meffert, 1987) and *Aphanizomenon flos-aquae* (L.) Ralfs ex Bornet & Flahault, 1888, in hypereutrophic lakes. Cyanobacteria are known to efficiently assimilate ammonium and switch between different nitrogen sources (Blomqvist et al., 1994; Glibert et al., 2016). When $N–NH_4$ is available, it is preferentially utilized, leading to its rapid depletion. Thus, ammonium functions as a rapidly cycling component that does not fully reflect nitrogen availability for phytoplankton.

In contrast, nitrate nitrogen is a more stable form and is less subject to immediate uptake. In the studied lakes, its concentrations reach 1.54–1.77 mg N/dm^3 in hypereutrophic systems, significantly exceeding those in mesotrophic lakes (0.027–0.26 mg N/dm^3). At the same time, nitrate consistently dominates over ammonium, which contrasts with classical assumptions about the accumulation of reduced nitrogen forms in eutrophic conditions (Quirós, 2002).

The oxygen regime plays a crucial role in maintaining high nitrate concentrations. In all studied lakes, dissolved oxygen levels remain relatively high (6.9–10.9 mg/L), including hypereutrophic systems. This indicates the absence of strongly reducing conditions in the pelagic zone and promotes active nitrification. As a result, ammonium entering the system or produced during organic matter mineralization is rapidly oxidized to nitrate, leading to its accumulation.

Moreover, nitrate nitrogen may reflect substantial external loading from the catchment area. Unlike phosphorus, which is often retained in sediments or exists in less accessible forms, nitrates remain dissolved and readily available for phytoplankton uptake. This

makes them a more reliable indicator of nitrogen availability in the system.

Thus, the stronger influence of nitrate nitrogen on phytoplankton development in the studied lakes is explained by a combination of factors: rapid ammonium uptake, high nitrification rates, stable oxygen conditions, and significant external nitrate inputs. Under these conditions, nitrate acts as the primary controlling factor of production processes, despite the traditionally leading role of phosphorus in freshwater ecosystems.

5. Conclusions

The present study confirmed a well-defined trophic gradient in the lakes of the Belarusian Lakeland, reflected in both phytoplankton quantitative characteristics and hydrochemical parameters of the aquatic environment. Phytoplankton biomass increases consistently from mesotrophic lakes with oligotrophic features (0.46–0.85 mg/L) to hypereutrophic systems (up to 46.75 mg/L), accompanied by decreasing water transparency and increasing nutrient concentrations.

Analysis of environmental factors showed that nitrogen compounds, particularly nitrate nitrogen ($N–NO_3$), play the most significant role in shaping phytoplankton quantitative characteristics. Moderate positive correlations were found between nitrate concentration and biomass ($r_s = 0.7$), whereas the influence of total phosphorus was slightly weaker ($r_s = 0.65$).

Ordination analysis (RDA) confirmed the leading role of nitrate nitrogen, demonstrating its maximum contribution to explaining variation in phytoplankton indicators along the trophic gradient.

Ammonium nitrogen plays a less significant role compared to nitrate, despite its high bioavailability. This is due to its rapid uptake by phytoplankton, especially in highly eutrophic lakes dominated by cyanobacteria. Hence, ammonium functions as a rapidly cycling form of nitrogen that does not accumulate in the water column, reducing its contribution to statistically detectable relationships.

The oxygen regime significantly influences the balance of nitrogen forms. Relatively high dissolved oxygen concentrations in all studied lakes promote active nitrification, leading to nitrate accumulation and its dominance over ammonium even under high productivity conditions.

Thus, a complex interplay of factors governs phytoplankton development in the lakes of the Belarusian Lakeland. Among them, both phosphorus and nitrogen are important, although the influence of nitrogen appears to be more pronounced. The results indicate that under conditions of high trophic status and sufficient aeration, nitrate nitrogen may act as a key controlling factor in production processes. This should be taken into account when assessing the ecological status of lakes and developing management strategies for eutrophication control.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

Blomqvist P., Pettersson A., Hyenstrand P. 1994. Ammonium-nitrogen: a key regulatory factor causing dominance of non-nitrogen-fixing cyanobacteria in aquatic systems. Archiv für Hydrobiologie 132: 141–164. DOI: 10.1127/archiv-hydrobiol/132/1994/141

Brezonik P.L., Bouchard Jr.R.W., Finlay J.C. et al. 2019. Color, chlorophyll a, and suspended solids effects on Secchi depth in lakes: implications for trophic state assessment. Ecological Applications 29(3): 1–12. DOI: 10.1002/eap.1871

Carlson R.E. 1977. A trophic state index for lakes. Limnology and Oceanography 22(2): 361–369. DOI: 10.4319/lo.1977.22.2.0361

Elser J.J., Bracken M.E.S., Cleland E.E. et al. 2007. Global analysis of nitrogen and phosphorus limitation of primary producers in freshwater, marine and terrestrial ecosystems. Ecology Letters 10(12): 1135–1142. DOI: 10.1111/j.1461-0248.2007.01113.x

Filiz N., Işkın Ug., Beklioğlu M. et al. 2020. Phytoplankton community response to nutrients, temperatures, and a heat wave in shallow lakes: an experimental approach. Water 12(12): 3394. DOI: 10.3390/w12123394

Glibert P.M., Maranger R., Sobota D.J. et al. 2016. The Haber Bosch–harmful algal bloom (HB-HAB) link. Environmental Research Letters 11(10): 1–13. DOI: 10.1088/1748-9326/9/10/105001

Gollerbach M.M., Savich V.P. 1951-1983. Opredelitel' presnovodnyh vodoroslej SSSR (14 tomov) [Identifier of freshwater algae of the USSR (14 volumes)]. Moscow. (in Russian)

Gong D., Guo Z., Wei W. et al. 2022. Phytoplankton community structure and its relationship with environmental factors in Nanhai Lake. Diversity 14(11): 927. DOI: 10.3390/d14110927

Guildford S.J., Hecky R.E. 2000. Total nitrogen, total phosphorus, and nutrient limitation in lakes and oceans: is there a common relationship? Limnology and Oceanography 45(6): 1213–1223. DOI: 10.4319/lo.2000.45.6.1213

Hecky R.E., Kilham P. 1988. Nutrient limitation of phytoplankton in freshwater and marine environments: a review of recent evidence on the effects of enrichment. Limnology and Oceanography 33(4): 796–822. DOI: 10.4319/lo.1988.33.4part2.0796

Kalinkina N.M., Smirnova V.S., Slastina Yu.L. et al. 2024. Razvitie zimnego fitoplanktona Onezhskogo ozera v zavisimosti ot fiziko-himicheskih uslovij sredy [Development of winter phytoplankton of Lake Onega depending on the physical and chemical conditions of the environment]. Izvestiya Russkogo geograficheskogo obshchestva [News of the Russian Geographical Society] 156 (4): 358–374. DOI: 10.31857/S0869607124040084 (in Russian)

Kitaev S.P. 1984. Ekologicheskie osnovy bioproduktivnosti ozyor raznyh prirodnyh zon [Ecological foundations of bioproductivity of lakes in different natural zones]. Moscow: Nauka. (in Russian)

Komárek J., Anagnostidis K. 2005. Süßwasserflora von Mitteleuropa. Süßwasserflora von Mitteleuropa. Cyanoprokaryota. Oscillatoriales. München: Elsevier Spektrum Akademischer Verlag.

Lean D.R.S. 1973. Movements of phosphorus between its biologically important forms in lake water. Journal of the Fisheries Research Board of Canada 30(10): 1525–1536. DOI: 10.1139/f73-251

Leng M., Yang Xi., Wu Xi. et al. 2024. Characteristics and factors influencing summer phytoplankton community structures of typical lakes in Southeast Hubei, China. Agronomy 14(8): 1652. DOI: 10.3390/agronomy14081652

Mikheeva T.M. 1999. Flora vodoroslej Belarusi: Taksonomicheskij katalog (spravochnoe posobie [Algal flora

of Belarus: Taxonomic catalogue (reference manual)]. Minsk: BSU. (in Russian)

Mikheyeva T.M. 1989. Methods of quantitative enumeration of nanophytoplankton (review). Hydrobiological Jornal 25: 3–21.

Mordukhai-Boltovsky F.D. 1975. Metodika izucheniya biogeocenozov vnutrennih vodoemov [Methodology for studying biogeocenoses of inland water bodies]. Moscow: Nauka. (in Russian)

Oğuz A., Akçaalan R., Köker L. et al. 2020. Driving factors affecting the phytoplankton functional groups in a deep alkaline lake. Turkish Journal of Botany 44 (6): 633–646. DOI: 10.3906/bot-2004-33

Quirós R. 2002. The relationship between nitrate and ammonia concentrations in the pelagic zone of lakes. Hydrobiologia 489: 1–8. DOI: 10.23818/limn.22.03

Reynolds C.S. 2006. The Ecology of Phytoplankton. New York: Cambridge University Press.

Rigler F.H. 1973. A dynamic view of the phosphorus cycle in lakes. In: Griffith E.J. et al. (eds.), Environmental Phosphorus Handbook. Wiley, pp. 279-306. DOI: 10.1002/9780470664001.ch13

Schindler D.W. 1977. Evolution of phosphorus limitation in lakes. Science 195(4275): 260–262. DOI: 10.1126/science.195.4275.260

Smith V.H. 1982. The nitrogen and phosphorus dependence of algal biomass in lakes: an empirical and theoretical analysis. Limnology and Oceanography 27(6): 1101–1112. DOI: 10.4319/lo.1982.27.6.1101

Tsybekmitova G.T., Radnaeva L.D., Tashlykova N.A. et al. 2021. Phytocenosis biodiversity at various water levels in mesotrophic Lake Arakhley, Lake Baikal basin, Russia. PeerJ 9: 1–24. DOI: 10.7717/peerj.11628

Vlasov B.P. 2004. Antropogennaya transformaciya ozer Belarusi: geoekologicheskoe sostoyanie, izmeneniya i prognoz [Anthropogenic transformation of lakes in Belarus: geoecological state, changes and forecast]. Minsk: BSU. (in Russian)

Vollenweider R.A. 1968. Scientific fundamentals of the eutrophication of lakes and flowing waters. OECD: Paris. DOI: 10.1787/9789264187150-en

Wetzel R.G. 2001. Limnology: Lake and River Ecosystems. Academic Press.

Zhu H., Liu X.G., Cheng S. 2021. Phytoplankton community structure and water quality assessment in an ecological restoration area of Baiyangdian Lake, China. International Journal of Environmental Science and Technology 18 (6): 1–8. DOI: 10.1007/s13762-020-02907-6

Original Article
LIMNOLOGY FRESHWATER BIOLOGY

The structure of phytoplankton in the Votkinsk Reservoir, Russia (2020–2025)

Belyaeva P.G.

Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, 614081, Russia

ABSTRACT. Using data from phytoplankton studies conducted in the Votkinsk Reservoir from July 2020 to 2025, its taxonomic composition, ecogeographic structure, and quantitative indicators were studied. The algal flora includes 379 intraspecific algal taxa from 9 divisions identified, with diatoms and green algae accounting for 61% of the algal flora. The annual list of planktonic algae included between 193 and 301 species and subspecies, with the main species composition remaining relatively constant over several years. In terms of ecogeography, the reservoir's phytoplankton algae are represented by typically planktonic species, widespread in water bodies worldwide, indifferent to water salinity, and found only in freshwater bodies with neutral waters. The average phytoplankton abundance was 59.6 ± 8.3 million cells/L and was determined by the development of cyanoprokaryotes, predominantly with small cell sizes. The average biomass was 8.89 ± 0.93 mg/L, consisting mainly of cyanoprokaryotes and diatoms. Over the study period, phytoplankton abundance and biomass fluctuated by two orders of magnitude and exhibited increasing trends. The dominant assemblage was formed by cyanoprokaryotes, primarily anheterocystous small-celled representatives of the genera *Aphanocapsa*, Anathece and *Planktolyngbya*, diatoms, cryptophytes, and dinoflagellates. In all years of the study, dominant species were *Aphanizomenon flos-aquae* and *Aulacoseira granulata*. Ongoing changes in phytoplankton, particularly the increased coenotic role of small-sized disazotrophic cyanoprokaryotes and dinophytes, indicate progressive eutrophication of the waters of the Kama Reach of the Votkinsk Reservoir due to the combined influence of anthropogenic factors and global warming. The community index Q and saprobity index characterize of the Votkinsk Reservoir as β-mesosaprobic, moderately polluted, corresponding to water quality class III.

Keywords: phytoplankton, Votkinsk Reservoir, ecological and geographical characteristics, community structure, dominant species, water quality

For citation: Belyaeva P.G. The structure of phytoplankton in the Votkinsk Reservoir, Russia (2020–2025) // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - P. 221-240. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-221

1. Introduction

Phytoplankton plays a crucial role in lentic ecosystems, serving as the primary source of primary production and energy. Light, nutrient cycling, energy flow, nutrient concentration, and water temperature determine the growth and composition of phytoplankton (Reynolds et al., 2002). The hydrodynamic characteristics of a water body can significantly influence conditions within the water column. Specifically, the transformation of river ecosystems due to hydrotechnical constructions alters the habitat conditions for aquatic organisms, leading to changes in phytoplankton and increased water productivity (Maavara et al., 2017).

In the Perm Krai, the Votkinsk Reservoir is one of the main sources of drinking and industrial water, as well as the primary receptor of wastewater from industrial enterprises and housing and communal services in the Perm-Krasnokamensk industrial complex. The water quality corresponds to class 3 (3a, 3b), categorized as polluted and heavily polluted, with a pollution index of 2.92–3.73 (State..., 2024).

The study of phytoplankton began as early as 1933-1934 in the unregulated Kama River. Systematic research on the structure and seasonal dynamics of phytoplankton commenced in 1938 (Shtina, 1941; Tauson, 1947). Data on the development of phytoplankton in the reservoir from the 1970s and 1980s to 2016 have

*Corresponding author. E-mail address: beliaeva@iegm.ru (P.G. Belyaeva)

Received: May 26, 2026;
Accepted after revised: July 28, 2026;
Available online: August 28, 2026

© Author(s) 2026. This work is distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

been presented in several studies (Tretiakova et al., 1988; Tretiakova, 1989; Belyaeva, 2017, 2018; 2022). The observed climate anomalies in the region (Third Assessment..., 2022) and water pollution are the causes of increased phytoplankton development, changes in species diversity and algae taxa ratios (Rühland et al., 2008; Sterner et al., 2020; Mineeva et al., 2024). In this connection, there is a need to study the transformation of phytoplankton of the Votkinsk Reservoir under the combined effects of climate and a complex of anthropogenic factors with an assessment of the role of autotrophs in the formation of the quality of the aquatic environment.

The goal is to study the spatiotemporal changes in the structure of phytoplankton of the Votkinsk Reservoir.

2. Materials and methods

The Votkinsk Reservoir was formed in 1962 on the Kama River as a result of the construction of the Votkinsk Hydroelectric Power Plant dam downstream from the mouth of the Saigatka River (Perm Krai). The reservoir is a narrow, highly winding water body, particularly in its central and upper sections. Based on its configuration and morphological features, it belongs to a simple valley type. The water surface area is 1120 km^2, and the volume is 9.36 km^3. The length of the reservoir is 340 km, with a maximum width of 8.6 km and an average width of 2.7 km. The maximum depth is 22.8 m near the dam, and the average depth is 7.1 m. Shallows up to 2 m deep account for 14% of the total area at the normal pool level (NPL) of 89 m (Baltic System). The macrophyte coverage area is 7%. The water exchange coefficient is 5.8 year^{-1} (Mikhalev et al., 2011). Only one reach, the Kama Reach, is identified within the reservoir. Based on its morphological and morphometric characteristics, the Votkinsk Reservoir is divided into 3 areas: upper, central, and lower (Matarzin and Matskevich, 1970).

A decrease in water mineralization is observed along the reservoir's longitudinal axis: from 380 mg/L near the city of Perm and in areas downstream of industrial discharges to approximately 200 mg/L in the central part and 130–160 mg/L in the dam area (Kitaev and Rochev, 2007). Water color is low, ranging from 33 to 49 degrees on the Cr–Co scale. Data from expeditions to the Votkinsk Reservoir conducted from July 2020 to 2025 at eight hydrobiological sites were used to analyze phytoplankton changes (Fig. 1). Phytoplankton samples of 1.0 L were collected at eight hydrobiological cross-sections (Fig. 1) in the surface (0.5–1.0 m) water layer. The collection and processing of quantitative phytoplankton samples were carried out according to standard hydrobiological methodologies (Methodology for Studying..., 1975). Abundance was counted in a 0.01 mL "Uchinskaya" chamber using a light microscope (ZEISS Axiostar Plus). Biomass was estimated by the cell-volume method, based on cell abundance and volume calculated using geometric similarity formulas. Species accounting for ≥10% of the total phytoplankton biomass were classified as dominant. The

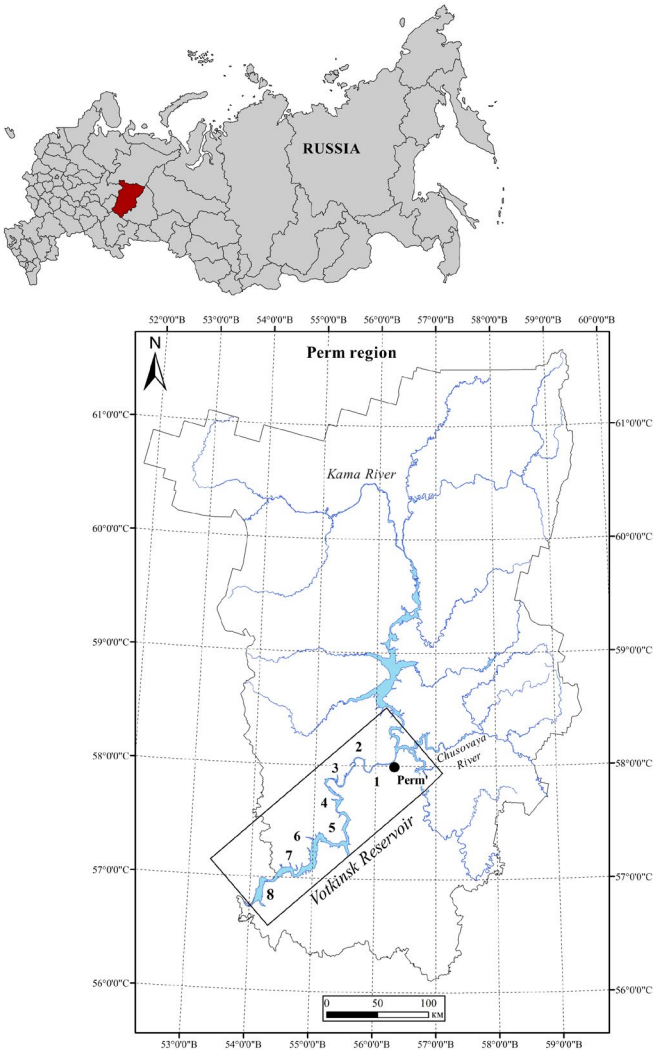


Fig.1. Map of the location of hydrobiological sections in the Votkinsk Reservoir.

identification of diatoms was performed in permanent mounts using light microscopy. To determine the taxonomic affiliation of the algae, foreign and domestic keys, systematic synopses, and monographs cited in Belyaeva (2024) were used. Species names were verified using an international database AlgaeBase (Guiry and Guiry, 2022). The similarity analysis of the algae species composition among the studied river sections was performed using the Sørensen–Czekanowski indices (Megarran, 1992). They were calculated dominance frequency (DF), dominance order (Dt), and occurrence frequency (pF) (Gorbulin, 2012).

The ecological and geographical characterization of the algae was compiled according to the most widely recognized frameworks adopted in algal ecology and biogeography (Proshkina-Lavrenko, 1953; Sládeček, 1973; Davydova, 1985; Marvan et al., 2005). To assess water saprobity, the Pantle–Buck indicator organism method in Sladeček's modification was used (Pantle and Buck, 1955; Sládeček, 1973).

Water quality assessment was performed using the community index Q, calculated as: = Pi is the biomass share of the i-th functional group in the total phytoplankton biomass, and F– is the coefficient (factor F) established for the i-th functional group for a specific type of water body according to Padisák (Padisák et al.,

2006; Padisák et al., 2009). The Q index corresponded to ecological condition values on a scale from 0 to 5: 0–1 – poor, 1–2 – low, 2–3 – moderate, 3–4 – good, and 4–5 – high.

Relative water transparency was measured by the depth at which the Secchi disk disappeared from view. Dissolved oxygen concentration and water temperature were measured using a HANNA HI 9146-04 oximeter (HANNA Instruments Ltd, England), and water pH was measured using a HANNA HI 98130 multiparameter analyzer (HANNA Instruments Ltd, England). Average monthly temperatures and precipitation data were obtained from the open GIS portal Meteoservice (2026). Regression and non-parametric analyses, along with graphical representations, were performed using MS Excel 2010 and STATISTICA 10. Only those statistical relationships that were significant at $p < 0.05$ are presented.

3. Results

In the Votkinsk Reservoir transparency was 60-150 cm in the period 2020-2025. The pH level of the water changed within 7.8 to 8.6. Oxygen content 6.02-9.52 (average 7.99 ± 0.13) ppm. The years of research varied significantly in water level, precipitation and temperature regime (Table 1). Precipitation and water level were below the average perennial over the summer in 2023. July 2021 with the highest rainfall. In the summer season, the long-term average water temperature was 17.7 ± 0.2 ˚C with fluctuations of 16.9–18.6 ˚C. Warm (in terms of temperature over the summer) are 2021-2023. The average air temperature in July 2020 and 2023 was higher than the long-term average, in 2025 on 1.5 ˚C lower.

During the study period, 379 taxa of algae of rank below genus (354 species) were identified in the phytoplankton of the Votkinsk Reservoir, belonging to 167 genera, 89 families, 52 orders, 9 divisions, including: Bacillariophyta – 123, Chlorophyta – 111, Cyanoprokaryota – 59, Chrysophyta – 37, Euglenophyta – 22, Dinophyta – 10, Charophyta (ord. Desmidiales) – 10, Cryptophyta – 4, Xantophyta – 2, Raphidophyta – 1. The list of algae included between 193 and 301 species and intraspecific taxa (IST) annually (Table 2). During the study period, the species richness of algae showed a negative trend; however, in the long-term observation series (since the study of the phytoplankton of the Kama Reservoir), the number of species and IST has been increasing (Fig. 2).

In the summer phytoplankton, the most diverse orders included Sphaeropleales (60), Chlorellales (30), Naviculales (26), Chroococcales (24), Euglenales (22), Nostocales (15), Bacillariales (12), Chrysosaccales (12), Stephanodiscales (12) and Fragilariales (11), which together accounted for 56% of the overall diversity. Among families, the most diverse were Scenedesmaceae (28), Microcystaceae (21), Naviculaceae (17), Schroederiaceae (15), Euglenaceae (15), Aphanizomenonaceae (13), Oocystaceae (12), Stephanodiscaceae (12), Fragilariaceae (12), Bacillariaceae (12) and Chrisococcaceae (12), ollectively forming 45% of systematic taxa below the genus rank. The species richness of Bacillariophyta was primarily composed of representatives from the genera *Navicula* Bory (13), *Nitzschia* Hassall (10), *Fragilaria* Lyngb. and *Aulacoseira* Thwaites (5 each), contributing to 32% of the diatom species richness; in Chlorophyta the most prevalent genera were *Scenedesmus* Meyen and *Desmodesmus* R. Chodat (7 each), *Monoraphidium* Komárková-Legnerová and *Chlamydomonas* Ehrenb. (5 each); in Chrysophyta – *Kephyrion* Pascher – had 8 species, while *Dinobryon* Ehrenb. and *Mallomonas* Perty each had 5; from Euglenophyta, the genus *Trachelomonas* Ehrenb. had 6 species, and from Cyanoprokaryota – *Dolichospermum* (Bornet & Flahault) P.Wacklin, L.Hoffmann & Komárek had 8 species.

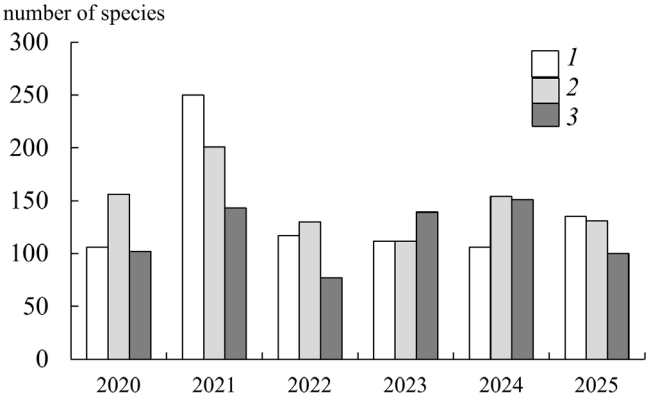


Fig.2. Number of algae species in different areas of the Votkinsk Reservoir.
1 – upper area, 2 – central area, 3 – near-dam area.

Table 1. Climatic conditions of the Perm region and the water level regime of the Votkinsk reservoir

Parameter	2020	2021	2022	2023	2024	2025
Average air temperature, ˚C Summer	16.9 (+0)	18.6 (+1.8)	18.1 (+1.4)	17.7 (+2.4)	17.5 (+0.4)	17.2 (+0.3)
July	21.1 (+2.4)	18.5 (-0.1)	20.1 (+1.5)	20.7 (+2.0)	18.6 (-0.3)	17.1 (-1.5)
Water tempera-ture on sampling days, ˚C	23.8 ±0.6	23.9 ±0.5	24.2 ± 0.5	23. 9 ±0.2	25±0.6	21.5 ±0.3
Precipitation, mm Average Summer	63.7 (-22)	77.7 (-28)	29.7 (-37)	44.7 (-41)	98 (+9)	76 (-4)
July	36 (-33)	144 (+45)	8 (-54)	51 (-27)	85 (-12)	64 (-15)
Water level, m (Baltic system) Summer	88.7	88.3	88.7	87.4	88.7	88.5
July	88.6	88.3	88.8	87.4	88.8	88.5

Table 2. Taxonomic composition of phytoplankton in the Votkinsk Reservoir from 2020 to 2025

Algae Department / Years of Research	2020	2021	2022	2023	2024	2025
Cyanoprokaryota	21	58	40	30	38	32
Chrysophyta	18	32	40	20	28	23
Bacillariophyta	76	91	78	67	54	62
Xanthophyta	1	0	0	1	0	0
Cryptophyta	2	4	4	4	4	2
Dinophyta	7	10	9	7	5	7
Raphidophyta	1	1	1	1	1	1
Euglenophyta	16	14	18	9	4	10
Chlorophyta	60	86	73	54	78	69
Charophyta	4	5	5	0	4	5
Total	205	301	268	193	216	205

The minimum number of species and intraspecific taxa of algae was noted in the channel part of the dam area of the reservoir. In warm years with insignificant precipitation in July (2020, 2022 and 2024), the number of algae taxa is higher in the central area of the reservoir. In 2021, with increased precipitation in July, the maximum variety of algae was noted in the upper area of the reservoir and decreased to the dam. In low-water 2023, the richness of species is higher in the dam area (Fig. 2). The correlation of species richness and precipitation (for July) in the reservoir as a whole was 50% and is significant only in the upper area (84%; $p \leq 0.01$), Cyanoprokaryota and Chlorophyta had a high dependence on precipitation (Table 3). A significant increase in the number of algae taxa was found with an increase in the average summer temperature (0.91 and 0.72; $p \leq 0.05$ for Cyanoprokaryota and phytoflagellates), there are no significant dependences of the number of species and IST on air temperature in July.

The coefficients of similarity (Chekanovsky-Sørensen index) of the algofra of the reservoir in the interannual aspect are quite high, 78–84%. For different areas, the reservoirs are lower, accounting for 60–76% ($p < 0.05$). The composition of phytoplankton in the upper area of the Votkinsk reservoir is similar to that in the middle area by 76%, the difference with the lower area is more significantly 60%. Between reservoir areas, differences in phytoplankton composition are associated with different conditions of existence, in particular, with the influence of the flora of tributaries and bays, as well as with the washing of periphyton algae from underwater substrates in shallow waters.

Table 3. Correlation coefficients of structural characteristics of phytoplankton in the Votkinsk Reservoir and some abiotic factors

Parameter	pH	Average air temperature (˚C)		Precipitation (mm) Average		Water level (m), July
		Summer	July	Summer	July	
Total biomass, mg/l	0.33	0.50	-0.16	-0.21	0.51*	-0.78*
$B_{\text{Bacillariophyta}}$	-0.10	0.25	0.42	-0.59	-0.32	-0.74*
$B_{\text{Chlorophyta}}$	0.87*	-0.21	-0.75	0.77*	0.23	0.02
$B_{\text{Cyanoprokaryota}}$	0.19	0.50*	-0.16	-0.16	0.84	-0.64*
$B_{\text{phytoflagellates}}$	0.86*	0.14	-0.69*	0.69*	0.10	0.55
Total abundance, million cells/l	0.31	0.59*	-0.21	-0.11	0.85*	-0.54*
$N_{\text{Bacillariophyta}}$	0.20	0.35	0.18	-0.39	-0.16	-0.67*
$N_{\text{Chlorophyta}}$	0.76*	0.02	-0.37	0.57	0.12	-0.12
$N_{\text{Cyanoprokaryota}}$	0.29	0.58*	-0.21	-0.11	0.87*	-0.52*
$N_{\text{phytoflagellates}}$	0.07	0.04	-0.29	0.31	0.71*	0.33
Number of taxa	0.10	0.86*	-0.17	-0.28	0.50	0.25
Number $_{\text{Bacillariophyta}}$	-0.46	0.61*	0.24	-0.66	0.38	0.09
Number $_{\text{Chlorophyta}}$	0.56	0.62*	-0.60*	0.34	0.63*	0.49
Number $_{\text{Cyanoprokaryota}}$	0.47	0.91*	-0.44*	-0.14	0.73	0.03
Number $_{\text{phytoflagellates}}$	-0.19	0.72*	0.15	-0.48	-0.10	0.29

Note: *B* – biomass; *N* – abundance; * – differences are significant at $p \leq 0.05$.

The summer phytoplankton of the Votkinsk Reservoir is characterized by the predominance of planktonic (40%) and planktonic-benthic (37%) species, most of which are cosmopolitans (87%). In terms of pH preference, alkaliphiles (50%) and indifferents (41%) are more diversely represented; in relation to salinity, indifferents dominate (70%). The number of saprobity indicator species reached 65% of the total composition. Assessment of water saprobity by indicator species showed a predominance of *β*-mesosaprobes (28%) and o–*β*-mesosaprobes (22%).

Phytoplankton abundance from 2020 to 2025 varied by two orders of magnitude, ranging from 3.7 to 459.4 million cells/L (averaging 59.6 ± 8.3 million cells/L), and was generally determined by the massive development of Cyanoprokaryota (80%), predominantly those with small cell sizes. Cyanoprokaryota reached their maximum development in 2021 (characterized by heavy precipitation in July), while their minimum development occurred in 2022 during the driest July. Total phytoplankton biomass values over the years fluctuated from 0.18 to 42.21 mg/L (averaging 8.89 ± 0.93 mg/L) (Table 4). Cyanoprokaryota also made a significant contribution to the total phytoplankton biomass, with the exception of the warm and dry year of 2022, which saw a sharp decline in overall phytoplankton development and a dominance of Bacillariophyta in the biomass. A high proportion of diatoms was also noted under similar weather conditions in 2023.

The contribution of algal divisions (average values by areas) to the overall abundance and biomass of phytoplankton in different areas of the Votkinsk Reservoir is shown in Figure 3. Over the study period, a decrease in the proportion of Cyanoprokaryota (from 95% to 86%) was noted, while a positive trend in the contribution of Chlorophyta to phytoplankton abundance was detected.

An increase in the proportion of Chlorophyta (from 5% to 15% of the biomass) and phytoflagellates (from 6% to 17%) due to the development of dinoflagellates, cryptophytes, and, less frequently, golden algae, this is particularly evident in years with low precipitation and moderate temperatures in July. The contribution of Cyanoprokaryota to biomass formation remains

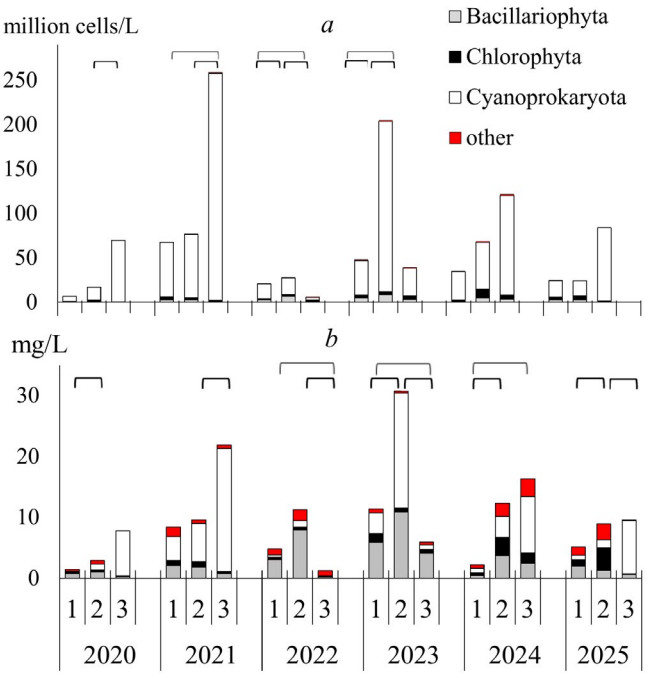


Fig.3. Contribution of algae divisions to the structure of phytoplankton of the Votkinsk Reservoir: (a) abundance, (b) biomass. 1 – upper area, 2 – central area, 3 – near-dam area.

significant, especially in the reservoir's near-dam area, except for the low-water year of 2023 (Fig. 3). When comparing areas of the reservoir based on the taxonomic structure of phytoplankton (the contribution of individual groups to overall quantitative indicators), reliable differences are observed for the upper area in 2023 and 2024; in other years, the differences between areas are not statistically significant ($p > 0.05$). No significant differences were found for different sections of the reservoir in terms of abundance.

For the phytoplankton, the mean values of abundance (62.4 ± 15.4 and 61.2 ± 15.2 62.4 million cells/L, respectively) and biomass (9.23 ± 1.36 and 8.30 ± 1.57 mg/L) in the shallow zone and the main channel area showed no significant differences.

Differences in weather conditions during the study years revealed significant positive correlations of phytoplankton abundance and biomass with July pre-

Table 4. Structural characteristics of phytoplankton in the Votkinsk Reservoir

Parameter	2020	2021	2022	2023	2024	2025
Total abundance, million cells/l	1.8–228.3 31.4 ± 14.4	20.1–459.4 125.2 ± 29.8	3.7–33.1 18.0 ± 2.3	16.3–216.5 79.4 ± 17.4	3.8–220.7 75.3 ± 17.1	8.4–202.4 41.7 ± 13.7
Total biomass, mg/l	0.18–25.63 4.04 ± 0.18	4.53–42.21 12.48 ± 2.23	0.72–13.60 5.39 ± 1.09	3.81–34.00 12.89 ± 2.61	0.88–30.32 10.30 ± 2.17	1.37–22.83 7.49 ± 1.49
Saprobicity index	1.75–2.20 2.01 ± 0.02	1.90–2.19 2.11 ± 0.02	1.98–2.13 2.06 ± 0.02	1.61–2.15 1.92 ± 0.04	1.53–2.10 1.95 ± 0.05	1.84–2.18 2.00 ± 0.04
Community Index Q	0.86–3.10 1.81 ± 0.24	0.81–1.83 1.26 ± 0.12	2.01–3.13 2.54 ± 0.13	2.07–2.88 2.36 ± 0.09	1.00–1.67 1.38 ± 0.10	1.02–2.77 1.79 ± 0.17
Shannon-Weaver Index	0.50–4.93 3.04 ± 0.15	0.95–5.03 3.05 ± 0.36	2.54–4.70 3.88 ± 0.18	2.33 –4.33 3.18 ± 0.18	2.72-4.76 3.98 ± 0.19	1.11-4.61 3.24 ± 0.33

Note: in the numerator – *min* – *max,* in the denominator – mean values with standard error.

cipitation ($r^2 = 0.85$; $p \leq 0.01$ и 0.51; $p < 0.05$, respectively) and negative correlations with water level ($r^2 = -0.54$; $p < 0.05$ и -0.78; $p < 0.05$, respectively). Differences were noted in how quantitative phytoplankton indicators responded to short-term versus summer-average temperature conditions (Table 2). The relationship between water temperature on sampling days and July air temperature, on the one hand, and the total phytoplankton abundance and biomass, on the other, was not significant, which is explained by the algae divisions responding in different directions. At the same time, a significant negative correlation was found between July temperature and the biomass of green algae and phytoflagellates. Average summer air temperatures warm the water and create optimal conditions for the growth of Cyanoprokaryota ($r = 0.58$ for abundance and $r = 0.50$ for biomass; $p \leq 0.05$). It is precisely the mass development of this group that determines the significant relationship between summer temperature and total abundance ($r = 0.59$; $p < 0.05$) and the strong tendency toward a relationship with total biomass ($r = 0.50$). A significant positive correlation was also noted between phytoplankton development and water pH, which was particularly high for Chlorophyta and phytoflagellates.

At the current stage of the reservoir's existence, the dominant complex included Cyanoprokaryota and Bacillariophyta, as well as Cryptophyta and Dinoflagellata (by biomass), which develop in the upper and central areas (Table 5). The maximum values of occurrence, order, and frequency of dominance were characteristic of *Aphanizomenon flos-aquae* Ralfs ex Born. end Flah. (pF = 92.7, Dt = 73.0, DF = 69.2). The phytoplankton of the Votkinsk Reservoir is characterized by the increasingly widespread distribution (across the entire water area) and development of non-heterocystous cyanoprokaryotes with high occurrence (pF = 70–90): (*Aphanocapsa holsatica* (Lemmermann) G.Cronberg & Komárek, *A. inserta* (Lemmermann) G.Cronberg & Komárek, *Anathece clathrata* (West & G.S.West) Komárek, Kaštovský & Jezberová), *Planktolyngbya limnetica* (Lemmermann) Komárková-Legnerová & Cronberg, and species of the genera *Oscillatoria* Vaucher ex Gomont and *Limnothrix* M.-E.Meffert). The dominant complex of species by biomass, as a rule, includes *A. flos-aquae* (pF = 93.4, Dt = 75.0, DF = 69.0) and *Aulacoseira granulata* (Ehrenberg) Simonsen (pF = 90.2, Dt = 68.2, DF = 86.8) with the maximum values of occurrence, order, and frequency of dominance. Other dominant species are

Table 5. Dominant complex of phytoplankton of the Votkinsk Reservoir

Dominant species	1981-1982	2010-2016	2020	2021	2022	2023	2024	2025
Cyanoprokaryota								
Aphanizomenon flos-aquae	**	***	***	***	***	***	***	***
Planktolyngbya limnetica	-	**	*	**	*	*	*	**
Microcystis spp.	**	**	*	*	*	-	-	-
Anathece clathrata	-	***	*	*	*	*	*	*
Aphanocapsa holsatica	-	-	*	*	*	*	**	**
Limnothrix planctonica (Wołoszyńska) Meffert	-	**	-	*	**	*	-	-
Bacillariophyta								
Aulacoseira granulata	*	***	**	**	***	***	***	***
Aulacoseira ambigua (Grunow) Simonsen	*	*	-	*	-	*	*	-
Actinocyclus normanii (W.Gregory ex Greville) Hustedt	-	**	*	-	-	-	-	-
Aulacoseira italica (Ehrenberg) Simonsen	*	**	-	*	-	-	-	-
Skeletonema subsalsum (A.Cleve) Bethge	**	-	-	-	-	-	-	-
Asterionella formosa Hassall	**	**	-	-	-	-	-	-
Dinophyta								
Peridinium cinctum (O.F.Müller) Ehrenberg	-	-	-	*	*	*	**	**
Apocalathium aciculiferum (Lemmermann) Craveiro, Daugbjerg, Moestrup & Calado	-	-	-	*	*	-	-	*
Cryptophyta								
Cryptomonas ovata Ehrenberg	*	-	-	*	**	*	**	**
Komma caudata (L.Geitler) D.R.A.Hill	-	-	-	*	*	-	*	-
Chlorophyta								
Pediastrum boryanum (Turpin) Meneghini	*	-	-	-	-	-	*	-
Lobomonas ampla Pascher	-	-	-	-	-	-	*	*

Note: * 10–15%, ** 15–30%; *** >30%, proportion of the species in the total abundance (N) or biomass (B)

characterized by low values of frequency and order of dominance, even with high occurrence.

Shannon indices of species diversity, calculated based on phytoplankton abundance (Hn) and biomass (Hb), varied widely (from 0.46 to 4.98 bits/specimen and from 0.49 to 5.02 bits/mg). The average long-term values of the index are quite high: 2.92 ± 0.14 and 3.34 ± 0.13, respectively (Table 4). The highest frequency of relative occurrence for Hb and Hn was 3.1–3.6 (58%). The sharp decrease in Shannon index values (≤ 0.5) in the shallow waters of the lower part of the reservoir in 2020 was determined by the widespread development of several cyanoprokaryotes specie, which form the basis of phytoplankton abundance and biomass (up to 75–90% of the total abundance) and indicated a simplification of the phytoplankton structure.

The Pantle-Bucca saprobity coefficients, reflecting the degree of organic pollution in water masses, ranged from 1.53 to 2.20 and characterized the waters during the summer season as β-mesosaprobic with a water quality class of III (moderately polluted). Differences between the saprobity indices at shallow and channel stations were not statistically significant.

In the phytoplankton, algae from codons H1, B, Y, Lo, G, MP, P, D, and C were most widely represented. The Q index values varied from 1.0 to 3.1 and were significantly lower in the near-dam area – 1.41 ± 0.26, which was determined by the dominance of cyanoprokaryotes within the algal communities and indicated low water quality.

4. Discussion

The list of planktonic algae species before the regulation of the Kama River (in the area corresponding to the Votkinsk Reservoir) included 330 taxa of algae, predominantly diatoms (Tauson, 1947). In the 1980s, the phytoplankton of the Votkinsk Reservoir was found to contain 396 taxa of algae (considering the flora of the bays), with 301 taxa of algae below the genus level in the channel part. The species diversity of the algal flora was mainly composed of green algae (broadly defined) – 113 species and diatoms – 111 (Tretiakova et al., 1988; Tretiakova, 1989). During our study, from 2020 to 2023, diatoms predominated in terms of species count in the phytoplankton, while in 2024–2025, green algae were more abundant.

Throughout the study period (2020–2025), the average values of abundance and biomass for the phytoplankton of the Votkinsk Reservoir experienced significant fluctuations, showing a tendency to increase but not exceeding the values recorded for the phytoplankton of the Votkinsk Reservoir in previously studied periods (since 2008) (Belyaeva, 2017; 2018; 2022; Korneva et al., 2025). It has been previously shown that the abundance and biomass values in August are 1.5–2 times higher at shallow stations than riverbed stations of the reservoir for the phytoplankton of the Votkinsk Reservoir (Belyaeva, 2018; 2022). However, during the period from 2020 to 2025, the differences in the July phytoplankton turned out to be insignificant. Such differences are likely explained by variations in temperature and hydrodynamics in different months, as according to S.P. Kitaev (1984), shallow areas are more heated and hydrologically isolated in August.

An increase in air and water temperatures, alongside changing precipitation patterns, drives the transformation of biological communities in reservoirs (Korneva et al., 2019). Specifically, it stimulates the growth of Chrysophyta and Dinophyta, making phytoflagellates a common component of reservoir communities (Korneva, 2022; Sakharova and Korneva, 2018). A clear dependence of phytoflagellate development on summer water temperatures has been established for the Volga reservoirs (Korneva, 2015). In the summer phytoplankton of the Votkinsk Reservoir, an increasing share of mixotrophic phytoflagellates has been observed over a number of years, driven by the development of large-celled Dinophyta and Cryptophyta. Against this background, an increase in total phytoplankton biomass is noted. Furthermore, according to many authors, the proliferation of phytoflagellates indicates the progressive eutrophication of a water body (Sládečeková and Sládeček, 1993; Rosowski, 2003; Goryunova, 2006; Suikkanen et al., 2007; Korneva, 2009; Wells et al., 2015). At the current stage of the reservoir's existence, the dominant complex included both the species of cyanoprokaryotes and diatoms established in previous studies (Belyaeva, 2017; 2018; 2022), as well as new species. The latter include small-sized non-heterocystous cyanoprokaryotes (by abundance) and species of Cryptophyta and Dinophyta (by biomass) (Table 5). Such distribution and succession of cyanoprokaryotes species are observed in many reservoirs during their long-term existence, for example, in the basins of the Volga (Korneva, 2015), Irtysh (Succession…, 2009), Angara (Kozhova and Basharova, 1984), Yenisei (Kozhevnikova, 2001), and Ob (Bazhenova and Mikhailov, 2021) rivers, as well as in the Prospect reservoirs in Australia (Luong et al., 2024), Hongfeng in southwest China (Long et al., 2018), and Lac au Duc in western France (Le Moal et al., 2021). This typically occurs at the final stages of oligo-eutrophic succession and indicates an increase in the trophic status of the waters (Korneva, 2015; Korneva and Glushchenko, 2020). During certain periods of the reservoir's existence, the dominant complex also included invasive diatoms: in the 1980s, *Skeletonema subsalsum* (Tretiakova et al., 1988; Tretiakova, 1989), which currently occurs only occasionally; from 2004 to 2018, *Actinocyclus normanii* was a dominant species throughout the reservoir (Belyaeva, 2017; 2018; 2022), and during the period of our study it is found throughout the reservoir, but was rarely part of the dominant complex (upper area).

The Shannon index (H), reflecting the complexity of community structure, takes into account the total number and dominance of individual species. Our research has shown that the diversity index generally decreases in water areas during the "blooming" period, with significant dominance of one to three species of phytoplankton, which is characteristic of the reservoir's dam area. In shallow waters, the index is often higher than at channel stations, obviously due to the constant

washing out of benthic or periphytic species.

Our studies have shown the differences in the saprobity index in the Votkinsk Reservoir are not significant in both spatial and interannual aspects.

Similar conclusions regarding the absence of spatial and temporal differences using the widely used saprobiological analysis of surface waters in the state monitoring system have been reached by many algologists (Kulizin et al., 2020; Korneva and Solovyeva, 2021; Vodeneeva et al., 2022; Startseva et al., 2022; Sharagina et al., 2024). The approach using morpho-functional groups of phytoplankton and the community index Q showed changes both across the reservoir's areas and in the interannual aspect. There is a clear ecological degradation of the phytoplankton structure from the upper area to the dam area, with water quality classes rated as "poor" and "low," dominated by phytoplankton species, which was determined by hydrological conditions, particularly maximum depths, stagnant zones, and accumulation of biogens. In the interannual aspect, the index has a dependence on air temperature (0.54 average for summer and 0.56 for July) and on the amount of precipitation (-0.92 average for summer and -0.85 for July).

5. Conclusion

In the summer phytoplankton of the Votkinsk Reservoir (2020–2025), a total of 379 species and infraspecific taxa of algae from 9 divisions were recorded. The highest number of taxa below the genus level was noted in the Bacillariophyta (32% of the total flora). The contribution of Chlorophyta was 29%. However, in the past two years, green algae have dominated in terms of species richness, with diatoms taking the second position. The maximum species diversity of algae was characteristic of the central area of the reservoir. From an ecological and geographical perspective, the phytoplankton is represented by typical planktonic species that are widely distributed in global water bodies, indifferent to salinity, restricted to freshwater environments, and preferring neutral waters. During the study period, abundance and biomass values varied by two orders of magnitude. Interannually, a rising trend in increasing phytoplankton abundance and biomass was observed. A reduction in the proportion of Cyanoprokaryota and an increase in the proportion of green algae have been noted in the formation of phytoplankton abundance and biomass. Additionally, there has been an increase in the proportion of phytoplankton flagellates contributing to biomass formation. The composition of the dominant phytoplankton complex has changed over the years and has recently come to include cryptophytes and dinoflagellates (by biomass). The composition of the dominant phytoplankton complex varied by year, and has recently come to include Cryptophyta and Dinophyta (by biomass). The dominant complex is primarily formed by indicator species of anthropogenic eutrophication (*Aphanizomenon flos-aquae*, виды рода *Microcystis*, *Aphanocapsa holsatica*, *Limnothrix planctonica*, *Aulacoseira granulata, A. ambigua, Pediastrum boryanum*), and there is also a mass development of non-heterocystous cyanoprokaryotes (*Aphanocapsa holsatica*, *Anathece clathrata*, *Planktolyngbya limnetica*). The saprobic indices characterize the waters of the Votkinsk Reservoir as *β*-mesosaprobic throughout the entire area of water, which corresponds to a Class III water quality. However, despite the overall stability of the index, it evidently underestimates the actual degree of eutrophication in the reservoir, as which is confirmed by the quantitative development and composition of the dominant phytoplankton complex. The Q community index, using morphofunctional groups of phytoplankton, also classifies the waters as moderately polluted (Class III quality), but is more informative and reflects both spatial and interannual changes in water quality.

Acknowledgements

The author expresses deep gratitude to the head and staff of the Perm branch of the All-Russian Research Institute of Fisheries and Oceanography for cooperation and collection of primary data.

Funding

This study was carried out as part of State Task no. 124020500028-4.

Conflict of interest

The authors declare no conflicts of interest.

References

Bazhenova O.P., Mikhailov V.V. 2021. Phytoplankton As an Indicator of the Modern Ecological State of the Novosibirsk Reservoir. Inland Water Biology 14: 670–678. DOI: 10.1134/S1995082921050023

Belyaeva P.G. 2017. Phytoplankton structure of the Votkinsk Reservoir in 2010–2016. Vestnik Permskogo universiteta. Biologiya [Bulletin of Perm University. Biology Series] 3: 257–262. (in Russian)

Belyaeva P.G. 2018. Long-term dynamics of composition and distribution of phytoplankton in the Votkinsk Reservoir (the Kama River basin, Perm Krai). Botanicheskii Zhurnal [Botanical Journal] 103 (3): 297–312. (in Russian)

Belyaeva P.G. 2022. Structure and functioning of algocenoses in aquatic ecosystems of the Perm Cis-Urals. Doctoral Dissertation in Biological Sciences, Borok, Russia. (in Russian)

Belyaeva P.G. 2024. Composition and structure of phytoplankton in the Sylvensko-Chusovsky reach Kama Reservoir (Russia). Tomsk State University Journal of Biology 66: 193–212. DOI: 10.17223/19988591/66/10

Davydova N.N. 1985. Diatoms - indicators of natural conditions of water bodies in the Holocene. Leningrad: Nauka Publishers. (in Russian)

Gorbulin O.S. 2012. Complexes of dominant phytoplankton forms in different types of water bodies. Альгология [Algologiya] 22 (3): 303–315. (in Russian)

Goryunova S.V. 2006. Patterns of anthropogenic degradation of water bodies: Abstract of a Doctor of Biological Sciences dissertation. Moscow State University, Moscow, Russia. (in Russian)

Guiry M.D., Guiry G.M. 2022. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. URL: http://www.algaebase.org (accessed: 20.11.2025).

Kitaev A.B., Rochev A.V. 2007. Chemical composition of water in the Votkinsk Reservoir under modern anthropogenic load. Geograficheskii vestnik [Geographical Bulletin] 1–2 (5–6): 90–95. (in Russian)

Kitaev S.P. 1984. Ecological bases of bioproductivity of lakes of different natural zones. Moscow: Nauka Publ. (in Russian)

Korneva L.G. 2009. Formation of phytoplankton in the Volga basin reservoirs under the influence of natural and anthropogenic factors: Abstract of a PhD thesis. St. Petersburg: Institute of Limnology, Russian Academy of Sciences, Russia. (in Russian)

Korneva L.G. 2022. Dynamics and distribution of mixotrophic phytoflagellates in large lowland reservoirs of the Volga basin. In: Actual Problems of Planktonology. IV All-Russian Conference with International Participation. Abstracts of papers, Svetlogorsk, September 25–30, 2022. Kaliningrad: Kaliningrad State Technical University, pp. 107–110. (in Russian)

Korneva L.G., Glushchenko G.Yu. 2020. Composition and Seasonal Succession of Phytoplankton of Taganrog Bay in the Sea of Azov and the Downstream Reaches of the Don River under a Changing Climate. Inland Water Biology 13: 23–30. DOI: 10.1134/S1995082920010071

Korneva L.G., Lazareva V.I., Mineeva N.M. et al. 2019. The State and Dynamics of Biological Communities in the Rybinsk Reservoir under Climate Changes. Zhurnal Sibirskogo federal'nogo universiteta. Seriya: Biologiya [Journal of Siberian Federal University. Biology] 12 (2): 160–179. DOI: 10.17516/1997-1389-0037 (in Russian)

Korneva L.G., Solovyeva V.V. 2021. Dynamics of Morphofuncitonal Groups of Phytoplankton in the Rybinsk Resrevoir and Assessment of the Resevoir Water Quality by the Community Index. Water Resources 48 (1): 65–72. DOI: 10.1134/S0097807821010206

Korneva L.G., Solovyova V.V., Makarova O.S. 2025. Current state of phytoplankton in the Volga, Kama, Don, and Volga–Don canal reservoirs (summer 2015–2018) under conditions of a changing climate and continuing eutrophy. Inland Water Biology 18 (1): 26-44. DOI: 10.1134/s1995082925700026

Korneva LG. 2015. Phytoplankton of reservoirs of the Volga basin. Kostroma: Kostroma Printing House. (in Russian)

Kozhevnikova N.A. 2001. Species structure of phytoplankton in the Krasnoyarsk reservoir (1977- 2000). In: Modern problems of hydrobiology of Siberia. Proc. of the Sci. Conf. Tomsk: Tomsk. Gos. Univ. Publ. (in Russian)

Kozhova O.M., Basharova N.I. 1984. Productivity of Angara reservoirs. Biologicheskie resursy vnutrennikh vodoemov Sibiri i Dal'nego Vostoka. Moscow: Nauka Publ. (in Russian)

Kulizin P.V., Vodeneeva E.L., Okhapkin A.G. 2020. Experience of using functional classification of phytoplankton for assessing the water quality of some left-bank tributaries of the Volga River (the Cheboksary Reservoir basin). Printsipy ekologii [Principles of Ecology] 9 (2): 48–59. DOI: 10.15393/j1.art.2020.9582 (in Russian)

Le Moal M., Pannard A., Brient L. et al. 2021. Is the Cyanobacterial Bloom Composition Shifting Due to Climate Forcing or Nutrient Changes? Example of a Shallow Eutrophic Reservoir. Toxins (Basel) 13 (5): 351. DOI: 10.3390/toxins13050351

Long S., Hamilton P.B., Yang Y. et al. 2018. Multi-year succession of cyanobacteria blooms in a highland reservoir with changing nutrient status, Guizhou Province, China. Journal of Limnology 77 (2): 232–246. DOI: 10.4081/jlimnol.2018.1636

Luong H.A., Rohlfs A.M., Facey J.A. et al. 2024. Long-term study of phytoplankton dynamics in a supply reservoir reveals signs of trophic state shift linked to changes in hydrodynamics associated with flow management and extreme events. Water Research 256: 121547. DOI: 10.1016/j.watres.2024.121547

Maavara T., Lauerwald R., Regnier P. et al. 2017. Global perturbation of organic carbon cycling by river damming. Nature Communications 8: 15347. DOI: 10.1038/ncomms15347

Marvan P., Marsalek B., Hetesa J. et al. 2005. Comments on the revised tables of algal (and other botanical) water quality indicators listed in CSN 75 7716 – discussion material for assessment of trophic status of water bodies. Association Flos Aquae. Supplement. Centre for Cyanobacteria and Their Toxins. URL: http://www.sinice.cz/res/file/scientific/trophicstatus-list.pdf (accessed: 20.11.2025)

Matarzin Yu.M., Matskevich I.K. 1970. Issues of reservoir morphometry and regionalization. In: Issues of Reservoir Formation and Their Impact on Nature and Economy. Iss. 1. Perm: Perm State University, pp. 27–45. (in Russian)

Megarran E. 1992. Ecological diversity and its measurement. Moscow: Mir Publ. (in Russian)

Meteoservice. Weather in Perm: weather archive. 2026. [Electronic resource]. URL: meteoservice.ru (accessed: 27.02.2026)

Methodology of studying biogeocenoses of inland water bodies. 1975. Moscow: Nauka. (in Russian)

Mikhalev V.V., Matskevich I.K., Beloborodov A.V. 2011. Contemporary morphometry of the Votkinsk reservoir. Vodnoe khozyaistvo Rossii: problemy, tekhnologii, upravlenie [Water Sector of Russia: Problems, Technologies, Management] 1: 23–32. DOI: 10.35567/1999-4508-2011-1-2 (in Russian)

Mineeva N.M., Lazareva V.I., Poddubnyi S.A. et al. 2024. Structure and Functioning of Plankton Communities in the Rybinsk Reservoir under the Conditions of Climate Change. Inland Water Biology 17 (1): 114–129. DOI: 10.1134/S1995082924010127

Padisák J., Borics G., Grigorszky I. et al. 2006. Use of phytoplankton assemblages for monitoring ecological status of lakes within the Water Framework Directive: the assemblage index. Hydrobiologia 553: 1–14.

Padisák J., Crossetti L.O., Naselli-Flores L. 2009. Use and misuse in the application of the phytoplankton functional classification: a critical review with updates. Hydrobiologia 1 (621): 1–19. DOI: 10.1007/s10750-008-9645-0

Pantle R., Buck H. 1955. Die biologische Uberwachung der Gewaesser und die Darstellung der Ergebnisse. Gasund Wasserfach 96 (18): 604–618. (in German)

Proshkina-Lavrenko AI. 1953. Diatoms - indicators of water salinity. In: Diatom Collection. Leningrad: Leningrad State University Publishers, pp. 186–205. (in Russian)

Reynolds C.S., Huszar V., Kruk C. et al. 2002. Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. Journal of Plankton Research 24(5): 417–428. DOI: 10.1093/plankt/24.5.417

Rosowski J. 2003. Photosynthetic euglenoids. Freshwater Algae of North America. Ecology and Classification. Elsevier Sc.: Acad. Press.

Rühland K., Paterson A.M., Smol J.P. 2008. Hemispheric scale patterns of climate-related shifts in planktonic diatoms from North American and European lakes. Global Change Biology 14 (11): 2740–2754. DOI: 10.1111/j.1365-2486.2008.01670.x

Sakharova E.G., Korneva L.G. 2018. Phytoplankton in the Littoral and Pelagial Zones of the Rybinsk Reservoir in Years with Different Temperature and Water-Level Regimes. Inland Water Biology 11 (1): 6–12. DOI: 10.1134/S1995082918010157

Sharagina E.M., Kulizin P.V., Startseva N.A. et al. 2024. Dominant species and functional complexes of phytoplankton of some unique karst lakes of the Middle Volga basin. Limnology and Freshwater Biology 3: 195–220. DOI: 10.31951/2658-3518-2024-A-3-195

Shtina E.A. 1941. Seasonal changes in the phytoplankton of the Kama River near the town of Okhansk according to observations in 1939 and 1940. Izvestiya Biologichesko NII pri Permskom gosudarstvennom universitete [Bulletin of the Biological Research Institute at Perm State University] 12 (2): 35–52. (in Russian)

Sládeček V. 1973. System of Water Quality from the Biological Point of View. Archiv für Hydrobiologie: Beihefte. Ergebnisse der Limnologie. Heft 7. (in German)

Sládečeková A., Sládeček V. 1993. Bioindication within the aquatic environment. Acta Universitatis Carolinae. Environmentalica 7 (1–2): 3.

Startseva N.A., Gavrilko D.E., Erina O.N. et al. 2022. Rapid assessment of water quality in the mouth area of the Kazanka River (Kazan) based on algological indicators. Actual problems of planktonology: IV All-Russian conference with international participation. Abstracts of reports, Svetlogorsk, September 25–30, 2022. Kaliningrad: Kaliningrad State Technical University, pp. 197–200. (in Russian)

State annual report “State and protection of the environment of Perm Krai” for 2024 / Ministry of Natural Resources of Perm Krai. URL: https://priroda.permkrai.ru/dokumenty/360883/ (accessed: 27.02.2026).

Sterner R.W., Rein K.L., Lafrancois et al. 2020. A first assessment of cyanobacterial blooms in oligotrophic Lake Superior. Limnology and Oceanography 65 (12): 2984–2998. DOI: 10.1102/lno.11569

Succession of biocenoses of the Bukhtarma Reservoir. 2009. Omsk: Omsk State Agrarian University. (in Russian)

Suikkanen S., Laamanen M., Huttunen M. 2007. Long-term changes in summer phytoplankton communities of the open northern Baltic Sea. Estuarine, Coastal and Shelf Science 71(3–4): 580–592. DOI: 10.1016/j.ecss.2006.09.004

Tauson A.O. 1947. Aquatic resourses of the Molotov region. Molotov. (in Russian)

Third Assessment Report on Climate Change and Their Consequences on the Territory of the Russian Federation. General Summary. 2022. St. Petersburg: Science-Intensive Technologies. (in Russian)

Tretiakova S.A. 1989. Phytoplankton of the Kama Reservoir. Collection of Scientific. tr. Ural Branch of the Academy of Sciences of the USSR «Hydrobiological characteristic of Ural reservoirs». Sverdlovsk, pp. 58–69. (in Russian)

Tretiakova S.A., Golovacheva S.I., Batova E.M. 1988. Phytoplankton. In: Biology of the Votkinsk Reservoir. Irkutsk, 26 – 36, pp. 153 – 157. (in Russian)

Vodeneeva E.L., Kulizin P.V., Sharagina E.M. et al. 2022. Species and functional diversity of phytoplankton in the estuarine areas of the Cheboksary Reservoir tributaries (Nizhny Novgorod region) In: Actual Problems of Planktonology: IV All-Russian Conference with International Participation. Abstracts, Svetlogorsk, September 25–30, 2022. Kaliningrad: Kaliningrad State Technical University. pp. 39–42. (in Russian)

Wells M.L., Trainer V.L., Smayda T.J. et al. 2015. Harmful algal blooms and climate change: Learning from the past and present to forecast the future. Harmful Algae 1 (49): 68-93. DOI: 10.1016/j.hal.2015.07.009

Оригинальная статья

Структура фитопланктона Воткинского водохранилища (Россия) в 2020 – 2025 годах

Беляева П.Г.

«Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» филиал ПФИЦ УрО РАН, Пермь, 614081, Россия

АННОТАЦИЯ. По материалам исследований фитопланктона Воткинского водохранилища в июле 2020–2025 г. изучены его таксономический состав, эколого-географическая структура и количественные показатели. Идентифицировано 379 видов и внутривидовых таксонов водорослей из 9 отделов, основу видового богатства создают диатомовые и зеленые водоросли (61% альгофлоры). Список водорослей планктона ежегодно включал от 193 до 301 видов и внутривидовых таксонов, основной состав видов на протяжении ряда лет оставался достаточно постоянным. В эколого-географическом аспекте альгофлора фитопланктона водохранилища представлена типично планктонными видами, широко распространенными в водоемах земного шара, индифферентными к солености воды, обитающими только в пресных водоемах с нейтральными водами. Средняя численность фитопланктона составила 59.6 ± 8.3 млн кл./л и определялась развитием цианопрокариот. Значения средней биомассы – 8.89 ± 0.93 мг/л, ее основу составляли цианопрокариоты и диатомовые водоросли. За период исследования для фитопланктона отмечены колебания значений численности и биомассы на 2 порядка, а также их тренды к увеличению. Доминантный комплекс сформирован цианопрокариотами, преимущественно безгетероцистными мелкоклеточными представителями родов *Aphanocapsa*, *Anathece*, *Planktolyngbya*, а также диатомовыми, криптофитовыми и динофитовыми водорослями. Во все годы исследования основными доминантными видами являлись *Aphanizomenon flos-aquae* и *Aulacoseira granulata*. Происходящие изменения в фитопланктоне, в частности усиление ценотической роли мелкоразмерных диазотрофных цианопрокариот и динофитовых водорослей, свидетельствуют о прогрессирующей эвтрофикации вод Камского плеса Воткинского водохранилища при совместном влиянии антропогенных факторов и потепления климата. Индекс сообщества Q и индекс сапробности характеризуют воды Воткинского водохранилища как *β*-мезосапробные, умеренно загрязненные, что соответствует III классу качества вод.

Ключевые слова: фитопланктон, Воткинское водохранилище, эколого-географическая характеристика, структура сообщества, доминантные виды, качество воды

Для цитирования: Беляева П.Г. Структура фитопланктона Воткинского водохранилища (Россия) в 2020 – 2025 годах // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - С. 221-240. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-221

1. Введение

Фитопланктон играет важную роль в лентических экосистемах, являясь основным источником первичной продукции и энергии. Свет, круговорот веществ и поток энергии, концентрация питательных веществ и температура воды определяют рост фитопланктона и его состав (Reynolds et al., 2002). Гидродинамические особенности водоема могут сильно влиять на условия в водной толще, в частности, трансформация речных экосистем, происходящая вследствие гидростроительства, заключается в изменении условий обитания гидробионтов, и также приводит к изменению фитопланктона и росту продуктивности вод (Maavara et al., 2017).

На территории Пермского края Воткинское водохранилище является одним из основных источников питьевого и промышленного водоснабжения, также и основной приемник сточных вод промышленных предприятий и предприятий жилищно-ком-

*Автор для переписки. Адрес e-mail: beliaeva@iegm.ru (П.Г. Беляева)

Поступила: 26 мая 2026;
Принята после доработки: 28 июля 2026;
Опубликована online: 28 августа 2026

© Автор(ы) 2026. Эта работа распространяется под международной лицензией Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.

мунального хозяйства Пермско–Краснокамского промышленного комплекса. Вода соответствует 3 классу качества (3а, 3б) разряду загрязненная и очень загрязненная – УКИЗВ 2.92 – 3.73 (Государственный..., 2024).

Изучение фитопланктона на акватории соответствующей Воткинскому водохранилищу было начато еще в не зарегулированной реке Кама в 1933–1934 гг., с 1938 г. было начато систематическое изучение структуры и сезонной динамики фитопланктона (Штина, 1941; Таусон, 1947). Данные о развитии фитопланктона в водохранилище в 1970–1980-х до 2016 г. представлены в ряде работ (Третьякова и др., 1988; Третьякова, 1989; Беляева, 2017; 2018; 2022).

Наблюдаемые климатические аномалии в регионе (Третий оценочный…, 2022) и загрязнение вод становятся причинами увеличения степени развития фитопланктона, изменений видового разнообразия и соотношения таксонов водорослей (Rühland et al., 2008; Sterner et al., 2020; Mineeva et al., 2024). В связи с чем, возникает необходимость изучения трансформации фитопланктона Воткинского водохранилища при совместном влиянии климата и комплекса антропогенных факторов с оценкой роли автотрофов в формировании качества водной среды. Цель – изучение пространственно-временных изменений структуры фитопланктона Воткинского водохранилища.

2. Материалы и методы

Воткинское водохранилище образовано в 1962 г. на р. Каме в результате сооружения плотины Воткинской ГЭС ниже устья р. Сайгатки (Пермский край). Водохранилище представляет собой узкий водоем со значительной извилистостью, особенно в центральной и верхней частях, по своим очертаниям и морфологическим особенностям относится к простому долинному типу. Площадь водного зеркала 1120 км^2, объем 9,36 км^3. Длина водохранилища 340 км, наибольшая ширина 8,6 км, средняя – 2,7 км. Максимальная глубина 22,8 м у плотины, средняя –7,1 м. Площадь мелководий до 2 м составляет 14% общей площади при НПУ (нормальный подпорный уровень) 89 м (БС). Площадь зарастаний – 7%. Коэффициент водообмена 5,8 год$^{-1}$ (Михалев и др., 2011). В водохранилище выделяется только один плес – Камский. По особенностям морфологии и морфометрии Воткинское водохранилище разделено на 3 района: верхний, центральный, нижний (Матарзин и Мацкевич, 1970).

По длине водохранилища наблюдается уменьшение минерализации вод от 380 мг/л в районе г. Перми и в створах ниже промышленных выбросов, в среднем районе ~ 200 мг/л, в приплотинном – 130–160 мг/л (Китаев и Рочев, 2007). Цветность низкая 33–49 град по хром-кобальтовой шкале.

Для анализа изменений фитопланктона использованы данные экспедиций по Воткинскому водохранилищу, проведенные в июле 2020–2025 гг. Пробы фитопланктона объемом 1,0 л отбирали на восьми гидробиологических створах (Рис. 1), в поверхностном (0,5–1,0 м) слое воды. Отбор и обработку количественных проб фитопланктона, осуществляли по общепринятым в гидробиологии методикам (Методика изучения..., 1975). Учет численности проводили в камере «Учинская» объемом 0,01 мл с использованием светового микроскопа (ZEISS Axiostar Plus). Биомассу оценивали счетно-массовым методом, исходя из численности и объема клеток, определенного по формулам геометрического подобия (Методика изучения..., 1975). К доминирующим относили виды, достигающие ≥10% суммарной биомассы или численности фитопланктона. Идентификацию диатомовых водорослей проводили в постоянных препаратах с применением световой микроскопии. Для определения таксономической принадлежности водорослей использовали зарубежные и отечественные определители, сводки систематического характера и монографии в работе П.Г. Беляевой (2024). Видовые названия уточняли с использованием международной базы данных AlgaeBase (Guiry and Guiry, 2025). Анализ сходства (различия) видового состава водорослей исследованных участков реки проведен с использованием индексов Сёренсена-Чекановского (Мэгарран, 1992).

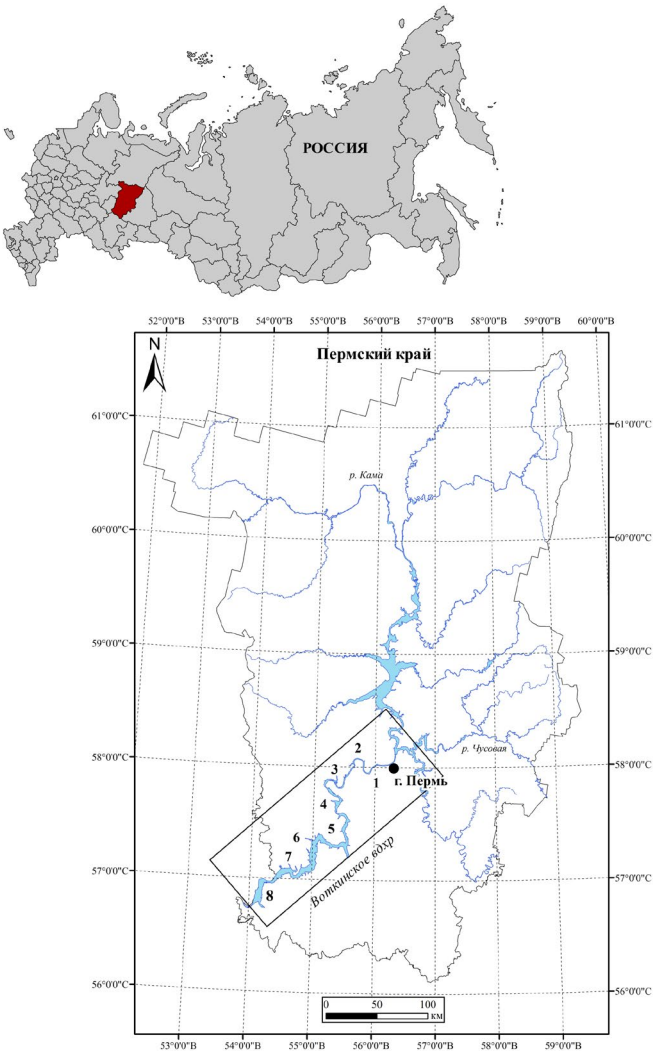


Рис.1. Карта-схема расположения гидробиологических створов в Воткинском водохранилище.

Для оценки роли отдельных таксонов в формировании альгоценозов вычисляли частоту встречаемости (pF), частоту доминирования (DF), порядок доминирования Dt = DF/pF·100%, средневзвешенное относительное обилие видов по численности (N%) и биомассе (B%). Частоту встречаемости вида определяли как отношение числа станций, на которых отмечен вид, к общему числу станций, принимаемому за 100%; частоту доминирования – как отношение числа станций, на которых вид доминирует по биомассе или численности к общему числу станций, принимаемому за 100% (Горбулин, 2012).

Эколого-географическая характеристика водорослей составлена по наиболее разработанным системам, принятым в экологии и биогеографии водорослей (Прошкина-Лавренко, 1953; Sládeček, 1973; Давыдова, 1985; Marvan et al., 2005). Для оценки сапробности воды использовали метод индикаторных организмов Пантле и Букк в модификации Сладечека (Pantle and Buck, 1955; Sládeček, 1973). Оценку качества воды проводили с помощью индекса сообществ Q: где Pi – доля биомассы i-й функциональной группы в общей биомассе фитопланктона; F – коэффициент (фактор F), установленный для i-й функциональной группы для определенного типа водоема по Падисак (Padisák et al., 2006; Padisák et al., 2009). Индекс Q соответствовал значениям экологического состояния согласно шкале от 0 до 5: 0–1 – плохое, 1–2 – низкое, 2–3 – умеренное, 3–4 – хорошее и 4–5 – высокое.

Относительную прозрачность воды измеряли по глубине исчезновения из вида диска Секки. Концентрацию растворенного кислорода и температуру воды измеряли с помощью оксиметра HANNA HI 9146-04 (HANNA Instruments Ltd, England), pH воды – многопараметрическим анализатором HANNA HI 98130 (HANNA Instruments Ltd, England). Средние значения температур по месяцам, данные по атмосферным осадкам получены из открытого ГИС-портала Метеосервис (2026).

Регрессионный, непараметрический анализы и графические построения выполнены с применением программ MS Excel 2010 и STATISTICA. Представлены только те статистические связи, которые были достоверны при $p < 0,05$.

3. Результаты исследования

В Воткинском водохранилище в период 2020–2025 гг. прозрачность воды составляла 60–150 см. Уровень pH воды изменялся в пределах 7,8–8,6. Содержание кислорода 6,02–9,52 (среднее 7,99 ± 0,13) мг/л. Годы исследований значительно различались по водности, количеству атмосферных осадков и температурному режиму (Таблица 1). Количество осадков и водность были ниже средних многолетних за лето в 2023 г. Июль 2021 г. с самым большим количеством осадков. В летний сезон среднемноголетнее значение температуры воды составило 17,7 ± 0,2˚C при колебаниях 16,9–18,6 ˚C. К теплым (по температуре за лето) отнесены 2021–2023 гг. Средняя температура воздуха в июле 2020 и 2023 гг. была выше средней многолетней, в 2025 г. – на 1,5˚C ниже.

За период исследования в фитопланктоне Воткинского водохранилища выявлено 379 таксонов водорослей рангом ниже рода (354 вида), относящихся к 167 родам, 89 семействам, 52 порядкам, 9 отделам, в том числе: Bacillariophyta – 123, Chlorophyta – 111, Cyanoprokaryota – 59, Chrysophyta – 37, Euglenophyta – 22, Dinophyta – 10, Charophyta (пор. Desmidiales) – 10, Cryptophyta – 4, Xantophyta – 2, Raphidophyta – 1. Список водорослей включал ежегодно от 193 до 301 видов и внутривидовых таксонов (ВВТ) (Таблица 2). В период исследования богатство видов водорослей имеет отрицательный тренд, однако, в многолетнем ряду наблюдений (с момента изучения фитопланктона Камского плеса) – число видов и ВВТ возрастает (Рис. 2).

В летнем фитопланктоне по богатству видов выделялись порядки Sphaeropleales (60), Chlorellales (30), Naviculales (26), Chroococcales (24), Euglenales (22), Nostocales (15), Bacillariales (12), Chrysosaccales (12), Stephanodiscales (12) и Fragilariales (11), в которых сосредоточено 56% общего разнообразия. Среди семейств наиболее разнообразны Scenedesmaceae (28), Microcystaceae (21), Naviculaceae (17), Schroederiaceae (15), Euglenaceae (15), Aphanizomenonaceae (13), Oocystaceae (12), Stephanodiscaceae (12), Fragilariaceae (12), Bacillariaceae (12) и Chrisococcaceae (12), вместе

Таблица 1. Климатические условия Пермского края и уровненный режим Воткинского водохранилища

Показатель	2020	2021	2022	2023	2024	2025
Средняя температура воздуха, ˚C лето	16,9 (+0)	18,6 (+1,8)	18,1 (+1,4)	17,7 (+2,4)	17,5 (+0,4)	17,2 (+0,3)
июль	21,1 (+2,4)	18,5 (-0,1)	20,1 (+1,5)	20,7 (+2,0)	18,6 (-0,3)	17,1 (-1,5)
Температура воды в дни отбора проб, ˚C	23,8 ± 0,6	23,9 ± 0,5	24,2 ± 0,5	23. 9 ± 0,2	25 ± 0,6	21,5 ± 0,3
Количество осадков, мм лето	63,7 (-22)	77,7 (-28)	29,7 (-37)	44,7 (-41)	98 (+9)	76 (-4)
июль	36 (-33)	144 (+45)	8 (-54)	51 (-27)	85 (-12)	64 (-15)
Уровень воды, м (балтийская система) лето	88,7	88,3	88,7	87,4	88,7	88,5
июль	88,6	88,3	88,8	87,4	88,8	88,5

Примечание: в скобках «+» показывает превышение нормы, «-» понижение от нормы

Таблица 2. Таксономический состав фитопланктона Воткинского водохранилища в 2020–2025 гг.

Отдел водорослей / годы исследований	2020	2021	2022	2023	2024	2025
Cyanoprokaryota	21	58	40	30	38	32
Chrysophyta	18	32	40	20	28	23
Bacillariophyta	76	91	78	67	54	62
Xanthophyta	1	0	0	1	0	0
Cryptophyta	2	4	4	4	4	2
Dinophyta	7	10	9	7	5	7
Raphidophyta	1	1	1	1	1	1
Euglenophyta	16	14	18	9	4	10
Chlorophyta	60	86	73	54	78	69
Charophyta	4	5	5	0	4	5
Всего	205	301	268	193	216	205

они формируют 45% систематических таксонов рангом ниже рода. Основу видового богатства водорослей Bacillariophyta составляли представители родов *Navicula* Bory (13), *Nitzschia* Hassall (10), *Fragilaria* Lyngb. и *Aulacoseira* Thwaites (по 5 представителей), формирующие 32% богатства видов диатомей; из Chlorophyta по числу видов преобладали *Scenedesmus* Meyen и *Desmodesmus* R. Chodat (по 7 представителей), *Monoraphidium* Komárková-Legnerová и *Chlamydomonas* Ehrenb. (по 5 представителей); из Chrysophyta – *Kephyrion* Pascher – 8 видов, *Dinobryon* Ehrenb. и *Mallomonas* Perty – по 5; из Euglenophyta род *Trachelomonas* Ehrenb. (6) и Cyanoprokaryota – *Dolichospermum* (Bornet & Flahault) P.Wacklin, L.Hoffmann & Komárek (8).

Минимальное количество видов и внутривидовых таксонов водорослей было отмечено в русловой части приплотинного района водохранилища. Исключением стал маловодный 2023 г., когда богатство видов здесь было выше. В теплые годы с незначительным количеством осадков в июле (2020, 2022 и 2024 гг.) число таксонов водорослей выше в центральном районе водохранилища. В 2021 г., с повышенным количеством осадков в июле, максимальное разнообразие водорослей отмечено в верхнем районе водохранилища и снижалось к плотине (Рис. 2). Корреляции богатства видов и количества осадков (за июль) в целом по водохранилищу составила 50% и значима только в верхнем районе (84%; $p \leq 0{,}01$), высокую зависимость от осадков имели цианопрокариоты (ЦП) и зеленые водоросли (Таблица 3). Достоверное увеличение числа таксонов водорослей установлено с ростом средней летней температуры (0,91 и 0,72; $p \leq 0{,}05$ для ЦП и фитофлагеллят) значимые зависимости числа видов и ВВТ от температуры воздуха за июль – отсутствуют.

Коэффициенты сходства (индекс Чекановского–Серенсена) альгофлоры водохранилища в межгодовом аспекте достаточно высоки, 78–84%. Для разных районов водохранилища ниже, и составляли 60–76% ($p < 0{,}05$). Состав фитопланктона верхнего района Воткинского водохранилища сходен с таковым в среднем районе на 76%, отличие

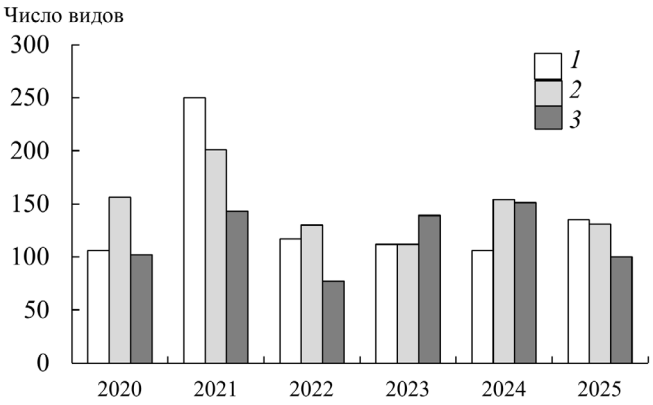


Рис.2. Количество видов водорослей в разных районах Воткинского водохранилища

1 – верхний, 2 – центральный, 3 – приплотинный район.

с нижним районом более значительно 60%. Между районами водохранилищ отличия состава фитопланктона связаны с разными условиями существования, в частности с влиянием флоры притоков и заливов, также со смывом водорослей перифитона с подводных субстратов на мелководьях.

Для летнего фитопланктона Воткинского водохранилища характерно преобладание планктонных (40%) и планктонно-бентосных (37%) видов, большинство из которых являются космополитами (87%). По отношению к pH среды более разнообразно представлены алкалифилы (50%) и индифференты (41%), по отношению к солености – индифференты (70%). Число видов-индикаторов сапробности достигало 65% общего состава. Оценка сапробности вод по индикаторным видам показала преобладание β-мезосапробов (28%) и о–β-мезосапробов (22%).

Численность фитопланктона с 2020 по 2025 гг. изменялась на 2 порядка, от 3,7 до 459,4 млн кл./л (средняя $59{,}6 \pm 8{,}3$ млн кл./л) и определялась, как правило, массовым развитием ЦП (80%) преимущественно с мелкими размерами клеток. ЦП достигали максимального развития в 2021 г. (с большим количеством осадков в июле), а минимум их развития приходился на 2022 г. с самым сухим

Таблица 3. Коэффициенты корреляции структурных характеристик фитопланктона Воткинского водохранилища и некоторых абиотических факторов

Показатель	pH	Средняя температура воздуха (°C)		Количество осадков (мм)		Уровень воды (м)
		лето	июль	лето	июль	июль
Биомасса, мг/л	0.33	0.50	-0.16	-0.21	0.51*	-0.78*
$B_{Bacillariophyta}$	-0.10	0.25	0.42	-0.59	-0.32	-0.74*
$B_{Chlorophyta}$	0.87*	-0.21	-0.75*	0.77*	0.23	0.02
$B_{Cyanoprokaryota}$	0.19	0.50*	-0.16	-0.16	0.84	-0.64*
$B_{phytoflagellates}$	0.86*	0.14	-0.69*	0.69*	0.10	0.55
Численность млн кл./л	0.31	0.59*	-0.21	-0.11	0.85*	-0.54*
$N_{Bacillariophyta}$	0.20	0.35	0.18	-0.39	-0.16	-0.67*
$N_{Chlorophyta}$	0.76*	0.02	-0.37	0.57	0.12	-0.12
$N_{Cyanoprokaryota}$	0.29	0.58*	-0.21	-0.11	0.87*	-0.52*
$N_{phytoflagellates}$	0.07	0.04	-0.29	0.31	0.71*	0.33
Число таксонов	0.10	0.86*	-0.17	-0.28	0.50	0.25
$Число_{Bacillariophyta}$	-0.46	0.61*	0.24	-0.66	0.38	0.09
$Число_{Chlorophyta}$	0.56	0.62*	-0.60*	0.34	0.63*	0.49
$Число_{Cyanoprokaryota}$	0.47	0.91*	-0.44*	-0.14	0.73	0.03
$Число_{phytoflagellates}$	-0.19	0.72*	0.15	-0.48	-0.10	0.29

Примечание. *B* – биомасса; *N* – численность; * – достоверно при $p \leq 0.05$.

июлем. Значения общей биомассы фитопланктона на протяжении ряда лет варьировали от 0,18 до 42,21 мг/л (средняя 8,89 ± 0,93 мг/л) (Таблица 4). Весомый клад в формирование общей биомассы фитопланктона вносили также ЦП, исключением стал теплый с недостатком осадков 2022 г., когда наблюдался резкий спад в развитии фитопланктона в целом и преобладание по биомассе диатомовых водорослей. Высокая доля диатомовых водорослей отмечена и в сходном по погодным условиям 2023 г.

Вклад отделов водорослей (средние значения по районам) в формирование общих значений численности и биомассы фитопланктона в разных районах Воткинского водохранилища представлен на рисунке 3. В период исследования отмечено снижение доли ЦП (с 95% до 86%) и выявлен положительный тренд доли зеленых водорослей в формировании численности фитопланктона. В формировании биомассы происходит увеличение доли зеленых водорослей (с 5% до 15% биомассы) и фитофлагеллят (с 6% до 17%) за счет развития динофитовых, криптофитовых и реже золотистых водорослей, это особенно четко проявляется в годы с низким количеством осадков и невысокой температуре за июль. Доля ЦП в формировании биомассы остаются значительной, особенно в приплотинном районе за исключением маловодного 2023 г. (Рис. 3). При сравнении районов водохранилища на основе таксономической структуры фитопланктона (вклада отдельных групп в общие количественные показатели) статистически значимы различия верхнего района с ниже расположенными в 2023 и 2024 гг., в другие годы различия между районами недостоверны (p > 0,05).

Для фитопланктона в мелководной зоне и русловой части значения средней численности (62,4 ± 15,4 и 61,2 ± 15,2 соответственно) и биомассы (9,23 ± 1,36 и 8,30 ± 1,57) не имели достоверных различий.

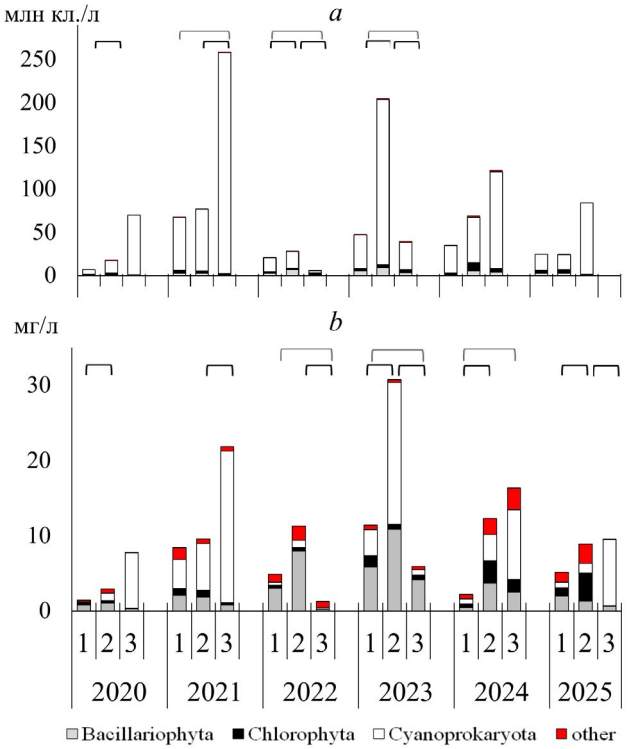


Рис.3. Вклад основных отделов водорослей в структуру фитопланктона Воткинского водохранилища.

Примечание: а – численность, б – биомасса, 1 – верхний, 2 – центральный и 3 – приплотинный районы водохранилища.

Таблица 4. Основные структурные характеристики фитопланктона Воткинского водохранилища

Показатели	2020	2021	2022	2023	2024	2025
Численность, млн кл./л	1.8–228.3 31.4 ± 14.4	20.1–459.4 125.2 ± 29.8	3.7–33.1 18.0 ± 2.3	16.3–216.5 79.4 ± 17.4	3.8–220.7 75.3 ± 17.1	8.4–202.4 41.7 ± 13.7
Биомасса, мг/л	0.18–25.63 4.04 ± 0.18	4.53–42.21 12.48 ± 2.23	0.72–13.60 5.39 ± 1.09	3.81–34.00 12.89 ± 2.61	0.88–30.32 10.30 ± 2.17	1.37–22.83 7.49 ± 1.49
Индекс сапробности	1.75–2.20 2.01 ± 0.02	1.90–2.19 2.11 ± 0.02	1.98–2.13 2.06 ± 0.02	1.61–2.15 1.92 ± 0.04	1.53–2.10 1.95 ± 0.05	1.84–2.18 2.00 ± 0.04
Индекс сообщества Q	0.86–3.10 1.81 ± 0.24	0.81–1.83 1.26 ± 0.12	2.01–3.13 2.54 ± 0.13	2.07–2.88 2.36 ± 0.09	1.00–1.67 1.38 ± 0.10	1.02–2.77 1.79 ± 0.17
Индекс Шеннона-Уивера	0.50–4.93 3.04 ± 0.15	0.95–5.03 3.05 ± 0.36	2.54–4.70 3.88 ± 0.18	2.33 –4.33 3.18 ± 0.18	2.72–4.76 3.98 ± 0.19	1.11–4.61 3.24 ± 0.33

Примечание: в числителе – *min* – *max,* в знаменателе – средние величины со стандартной ошибкой.

Различия погодных условий в годы исследований позволили выявить значимые положительные зависимости численности и биомассы фитопланктона от количества атмосферных осадков за июль ($r = 0{,}85$; $p \le 0{,}01$ и 0,51; $p < 0{,}05$ соответственно) и отрицательные с водностью ($r = -0{,}54$; $p < 0{,}05$ и -0,78; $p < 0{,}05$ соответственно). Отмечены различия в отклике количественных показателей фитопланктона на кратковременные и средние за лето температурные условия (Таблица 2). Связь с температурой воды в дни отбора проб и температурой воздуха за июль с общими значениями численности и биомассы фитопланктона не значима, что определяется разнонаправленной реакцией отделов водорослей. При этом отмечена достоверная отрицательная корреляция температуры июля с биомассой зеленых водорослей и фитофлагеллят. Средние за лето температуры воздуха (интегральные) отражают прогрев воды и при котором оптимальные условия для вегетации ЦП ($r = 0{,}58$ по численности и $r = 0{,}50$ по биомассе; $p \le 0{,}05$). Именно массовое развитие данного отдела определяет значимую связь летней температуры с общей численностью ($r = 0{,}59$; $p < 0{,}05$) и высокую тенденцию к связи с общей биомассой ($r = 0{,}50$). Также отмечена достоверная положительная зависимость развития фитопланктона от pH воды, особенно высокая для зеленых хлорококковых водорослей и фитофлагеллят.

В период исследования водоема в доминантный комплекс входили ЦП и диатомовые водоросли, а также криптофитовые и динофитовые водоросли (по биомассе), которые получали развитие в верхнем и центральном районах (Таблица 5). Максимальные показатели встречаемости, порядка и частоты доминирования были характерны для *Aphanizomenon flos-aquae* Ralfs ex Born. end Flah. ($pF = 92{,}7$, $Dt = 73{,}0$, $DF = 69{,}2$). Для фитопланктона Воткинского водохранилища характерно все большее распространение (по всей акватории) и развитие безгетероцистных ЦП с высокой встречаемостью ($pF = 70$–90): (*Aphanocapsa holsatica* (Lemmermann) G.Cronberg & Komárek, *A. inserta* (Lemmermann) G.Cronberg & Komárek, *Anathece clathrate* (West & G.S.West) Komárek, Kaštovský & Jezberová), *Planktolyngbya limnetica* (Lemmermann) Komárková-Legnerová & Cronberg, виды родов *Oscillatoria* Vaucher ex Gomont и *Limnothrix* M.-E.Meffert). В доминантный комплекс видов по биомассе, как правило, входят *A. flos-aquae* ($pF = 93{,}4$, $Dt = 75{,}0$, $DF = 69{,}0$) и *Aulacoseira granulata* (Ehrenberg) Simonsen ($pF = 90{,}2$, $Dt = 68{,}2$, $DF = 86{,}8$) с максимальными показатели встречаемости, порядка и частоты доминирования. Другие доминантные виды характеризуются низкими показателями частоты и порядка доминирования даже при высокой встречаемости.

Индексы видового разнообразия Шеннона, рассчитанные по численности (Hn) и биомассе (Hb) фитопланктона широко варьировали (от 0,46 до 4,98 бит/экз. и от 0,49 до 5,02 бит/мг). Среднемноголетние значения индекса достаточно велики, соответственно $2{,}92 \pm 0{,}14$ и $3{,}34 \pm 0{,}13$ (Таблица 4). Наибольшая частота относительной встречаемости для Hb и Hn составила 3,1–3,6 (58%). Резкое снижение значений индекса Шеннона ($\le 0{,}5$) в мелководьях нижнего района водохранилища в 2020 г. определялось массовым развитием нескольких видов ЦП, формирующих основу численности и биомассы фитопланктона (до 75–90% общей численности) и указывало на упрощение структуры фитопланктона.

Коэффициенты сапробности Пантле-Букка, отражающие степень органического загрязнения водных масс, изменялись в диапазоне от 1,53 до 2,20 и характеризовали воды в летний сезон как β-мезосапробные с III классом качества воды – умеренно загрязненная. Между индексами сапробности на мелководьях и русловых станциях различия статистически не значимы.

В фитопланктоне, на основе функциональной классификации, наиболее широко были представлены водоросли из групп H1, B, Y, Lo, G, MP, P, D и C. Значения индекса Q варьировали от 1,0 до 3,1 и были значительно ниже в приплотинном – $1{,}41 \pm 0{,}26$, что определялось доминированием в составе альгоценозов цианопрокариот и свидетельствовало о низком качестве вод.

4. Обсуждение результатов

Список видов водорослей планктона до зарегулирования р. Кама (на соответствующей Воткинскому водохранилищу акватории) включал

Таблица 5. Доминантный комплекс фитопланктона Воткинского водохранилища

Доминантные виды	1981-1982	2010-2016	2020	2021	2022	2023	2024	2025
Cyanoprokaryota								
Aphanizomenon flos-aquae (N, B)	**	***	***	***	***	***	***	***
Planktolyngbya limnetica (N)	-	**	*	**	*	*	*	**
Microcystis spp. (N)	**	**	*	*	*	-	-	-
Anathece clathrata (N)	-	***	*	*	*	*	*	*
Aphanocapsa holsatica (N)	-	-	*	*	*	**	***	**
Limnothrix planctonica (Wołoszyńska) Meffert (N)	-	**	-	*	**	*	-	-
Bacillariophyta								
Aulacoseira granulata	*	***	**	**	***	***	***	***
Aulacoseira ambigua (Grunow) Simonsen (B)	*	*	-	*	-	*	*	-
Actinocyclus normanii (W. Greg. ex Greville) Hustedt (B)	-	***	**	*	*	*	-	-
Aulacoseira italica (Ehrenb.) Simonsen (N, B)	**	**	-	*	-	-	-	-
Skeletonema subsalsum (A.Cleve) Bethge (N, B)	**	-	-	-	-	-	-	-
Asterionella formosa Hassall (B)	**	**	-	-	-	-	-	-
Dinophyta								
Peridinium cinctum (O.F.Müller) Ehrenb. (B)	-	-	-	*	*	*	**	**
Apocalathium aciculiferum (Lemm.) Craveiro, Daugbjerg, Moestrup et Calado (B)	-	-	-	*	*	-	-	*
Cryptophyta								
Cryptomonas ovata Ehrenb. (B)	*	-	-	*	**	*	**	**
Komma caudata (L.Geitler) D.R.A.Hill (B)	-	-	-	*	*	-	*	-
Chlorophyta								
Pediastrum boryanum (Turpin) Menegh. (N, B)	*	-	-	-	-	*	*	-
Lobomonas ampla Pascher (B)	-	-	-	-	-	-	*	*

Примечание: * 10–15%, ** 15–30%; *** >30%, доля вида в общей численности (N) или биомассе (B)

330 таксонов водорослей, с преобладанием диатомовых (Таусон, 1947). В 1980х годах в фитопланктоне Воткинского водохранилища определено 396 таксонов водорослей (с учетом флоры заливов), в русловой части – 301 таксон водорослей рангом ниже рода. Основу видового разнообразия альгофлоры формировали зеленые водоросли (в широком понимании) – 113 видов и ВВТ и диатомовые – 111 (Третьякова и др., 1988; Третьякова, 1989). В период нашего исследования в фитопланктоне в 2020–2023 гг. по числу видов преобладали диатомовые водоросли, а в 2024–2025 гг. зеленые водоросли.

В течение исследуемого периода (2020–2025 гг.) для фитопланктона Воткинского водохранилища средние значения численности и биомассы подвергались значительным колебаниям, имели тенденцию к увеличению, но не выходили за пределы значений, зарегистрированных для фитопланктона Воткинского водохранилища для ранее изученных периодов (с 2008 г.) (Беляева, 2017; 2018; 2022; Korneva et al., 2025). Для фитопланктона Воткинского водохранилища ранее было показано, что значения численности и биомассы в августе в 1,5–2 раза выше на мелководных станциях, чем на русловых (Беляева, 2018; 2022), однако в период 2020–2025 гг. для июльского фитопланктона различия оказались недостоверными. Такие различия, скорее всего, объясняются особенностями температуры и гидродинамики в разные месяцы, так согласно С.П. Китаеву (1984) в августе мелководья являются более прогретыми и гидрологически изолированными.

Увеличение температуры воздуха, воды и атмосферных осадков способствуют трансформации биологических сообществ водохранилищ (Корнева и др., 2019), в частности стимулирует рост золотистых и динофитовых водорослей, в результате чего фитофлагелляты становятся обычным компонентом сообществ водохранилищ (Sakharova and Korneva, 2018; Корнева, 2022). Для Волжских водохранилищ выявлена зависимость развития фитофлагеллят с температурой воды в летний период (Корнева, 2015). Для летнего фитопланктона Воткинского водохранилища на протяжении ряда лет отмечено увеличение доли миксотрофных фитофлагеллят, что определяется развитием крупноклеточных представителей динофитовых и криптофитовых водорослей. На фоне этого отмечается увеличение биомассы фитопланктона. Также, по мнению многих авторов, развитие фитофлагеллят свидетельствует о прогрессирующем эвтрофировании водо-

ема (Sládečeková and Sládeček, 1993; Rosowski, 2003; Горюнова, 2006; Suikkanen et al., 2007; Корнева, 2009; Wells et al., 2015).

На современном этапе существования водоема в доминирующий комплекс входили как виды-доминанты ЦП и диатомовых водорослей, установленные в предшествующих исследованиях (Беляева, 2017; 2018; 2022), так и новые виды, например, мелкоразмерные безгетероцистные ЦП по численности и виды криптофитовых и динофитовых (по биомассе) (Таблица 5). Подобное распространение и смена видов ЦП наблюдается во многих водохранилищах в процессе их многолетнего существования, например, в бассейнах рек Волги (Корнева, 2015), Иртыша (Сукцессии..., 2009), Ангары (Кожова и Башарова, 1984), Енисея (Кожевникова, 2001), Оби (Bazhenova and Mikhailov, 2021), в водохранилищах Проспект в Австралии (Luong et al., 2024), Хунфэн на юго-западе Китая (Long et al., 2018), Лак-о-Дюк на западе Франции (Le Moal et al., 2021). Обычно это происходит на заключительных стадиях олиго-эвтрофной сукцессии и свидетельствует об увеличении трофического статуса вод (Корнева, 2015; Korneva and Glushchenko, 2020). В определенные периоды в доминантный комплекс входили инвазивные диатомовые водоросли: в 1980х гг. – *Skeletonema subsalsum* (Третьякова и др., 1988; Третьякова, 1989), сейчас это вид с единичной встречаемость; с 2004 по 2018 гг. *Actinocyclus normanii* доминантный вид по всей акватории водохранилища (Беляева, 2017; 2018; 2022), в период нашего исследования встречается по всей акватории водохранилища, но редко входит в доминантный комплекс (верхний район).

Индекс Шеннона (H), отражающий степень сложности структуры сообщества, учитывает общее количество и степень доминирования отдельных видов. Наши исследования показали, что индекс разнообразия, как правило, снижался на участках акватории в период «цветения» воды, при значительном доминировании одного–трех видов ЦП, что характерно для приплотинного района водохранилища. На мелководьях индекс часто выше, чем на русловых станциях, очевидно за счет постоянного смыва бентосных или перифитонных видов.

Проведенные нами исследования показали отсутствие пространственных и временных различий широко используемого в системе государственного мониторинга поверхностных вод сапробиологического анализа вод, подобные выводы сделаны многими альгологами (Кулизин и др., 2020; Korneva and Solovyeva, 2021; Воденеева и др., 2022; Старцева и др., 2022; Sharagina et al., 2024). Различия индекса сапробности в Воткинском водохранилище недостоверно как в пространственном, так и в межгодовом аспектах. Подход с использованием морфофункциональных групп фитопланктона и индекса сообщества Q, показал его изменения, как по районам водохранилища, так и в межгодовом аспекте. Наблюдается четкая экологическая деградация структуры фитопланктона от верхнего района (индекс Q $2{,}19 \pm 0{,}20$), с классом качества вод «умеренное», к приплотинному (индекс Q $1{,}33 \pm 0{,}22$) с классом качества вод «низкое», при доминировании в составе альгоценозов ЦП, что определялось гидрологическими условиями, в частности, максимальными глубинами, застойными зонами и аккумуляцией биогенов. В межгодовом аспекте индекс имеет зависимость от температуры воздуха (0,54 средняя за лето и 0,56 за июль) и с количеством осадков (-0,92 среднее за лето -0,85 июль).

5. Заключение

В составе летнего фитопланктона Воткинского водохранилища (2020–2025 гг.) зарегистрировано 379 видов и ВВТ водорослей из 9 отделов. Наибольшее число таксонов рангом ниже рода отмечено в отделе диатомовых водорослей (32% альгофлоры). Вклад зеленых водорослей составил 29%. Однако в последние два года по богатству видов преобладают зеленые водоросли, диатомовые занимают вторую позицию. Максимальное видовое разнообразие водорослей характерно для центрального района водохранилища. В эколого-географическом аспекте фитопланктон представлен типично планктонными видами, широко распространенными в водоемах земного шара, индифферентными к солености воды, обитающими только в пресных водоемах и предпочитающими нейтральные воды. За период исследования значения численности и биомассы изменялись на 2 порядка. В межгодовом аспекте для фитопланктона отмечен тренд увеличения общих численности и биомассы. Выявлено снижение доли ЦП и увеличение доли зеленых водорослей в формировании численности и биомассы фитопланктона. В формировании биомассы кроме этого, отмечено увеличение доли фитофлагеллят. Состав доминантного комплекса фитопланктона изменялся по годам, и в последнее время стал включать криптофитовые и динофитовые водоросли (по биомассе). Основу доминантного комплекса формируют преимущественно виды-индикаторы антропогенного эвтрофирования (*Aphanizomenon flos-aquae*, виды рода *Microcystis*, *Aphanocapsa holsatica*, *Limnothrix planctonica*, *Aulacoseira granulata, A. ambigua, Pediastrum boryanum*), также наблюдается массовое развитие безгетероцистных цианопрокариот (*Aphanocapsa holsatica*, *Anathece clathrata*, *Planktolyngbya limnetica*).

Индексы сапробности характеризуют воды Воткинского водохранилища как *β*-мезосапробные по всей акватории, что соответствует III классу качества вод. Однако, несмотря на общую стабильность индекс, очевидно, недооценивает реальную степень эвтрофирования водохранилища, выявленную по количественному развитию и составу доминантного комплекса фитопланктона. Индекс сообщества Q, с использованием морфофункциональных групп фитопланктона, также характеризует воды как умеренно загрязненные (III класс качества), но при этом является более информативным и отражает как пространственные, так и межгодовые изменения качества воды.

Благодарности

Автор выражает глубокую благодарность руководителю и коллективу Пермского филиала Всероссийского научно-исследовательского института рыбного хозяйства и океанографии за сотрудничество и сбор первичных данных.

Работа выполнена в соответствии с Государственным заданием № 124020500028-4.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликтов интересов.

Список литературы

Беляева П.Г. 2017. Структура фитопланктона Воткинского водохранилища в 2010–2016 гг. Вестник Пермского университета. Биология 3: 257–262.

Беляева П.Г. 2018. Многолетняя динамика состава и распределения фитопланктона Воткинского водохранилища (бассейн Камы, Пермский край). Ботанический журнал 103 (3): 297–312.

Беляева П.Г. 2022. Структура и функционирование альгоценозов водных экосистем Пермского Предуралья. Диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук. Борок, Россия.

Беляева П.Г. 2024. Состав и структура фитопланктона Сылвенско-Чусовского плеса Камского водохранилища (Россия). Вестник Томского государственного университета. Биология 66: 193–212. DOI: 10.17223/19988591/66/10

Воденеева Е.Л., Кулизин П.В., Шарагина Е.М. и др. 2022. Видовое и функциональное разнообразие фитопланктона в устьевых участках притоков Чебоксарского водохранилища (Нижегородская область). В: Актуальные проблемы планктонологии: IV Всероссийская конференция с международным участием. Тезисы докладов, Светлогорск, 25–30 сентября 2022 года. Калининград: Калининградский государственный технический университет, С. 39–42.

Горбулин О.С. 2012. Комплексы доминантных форм фитопланктона разнотипных водоемов. Альгология 22 (3): 303–315.

Горюнова С.В. 2006. Закономерности процесса антропогенной деградации водных объектов: Автореф. дис. … докт. биол. наук. М.: МГУ, Россия.

Государственный ежегодный доклад «Состояние и охрана окружающей среды Пермского края» за 2024 год. Минприроды Пермского края. 2024. URL: https://priroda.permkrai.ru/dokumenty/360883/ (дата обращения: 27.02.2026).

Давыдова Н.Н. 1985. Диатомовые водоросли – индикаторы природных условий водоемов в голоцене. Ленинград.

Китаев А.Б., Рочев А.В. 2007. Химический состав воды Воткинского водохранилища в условиях современной техногенной нагрузки. Географический вестник 1–2 (5–6): 90–95.

Китаев С.П. 1984. Экологические основы биопродуктивности озер разных природных зон. Москва: Наука.

Кожевникова Н.А. 2001. Видовая структура фитопланктона Красноярского водохранилища (1977–2000 гг.). В: Современные проблемы гидробиологии Сибири: Всероссийская конференция. Тезисы докладов. Томск, 14–16 ноября 2001 г. Томск: Томский государственный университет.

Кожова О.М., Башарова Н.И. 1984. Продуктивность ангарских водохранилищ. Биологические ресурсы внутренних водоемов Сибири и Дальнего Востока. Москва: Наука.

Корнева Л.Г. 2009. Формирование фитопланктона водоемов бассейна Волги под влиянием природных и антропогенных факторов: Автореф. дис. … докт. биол. наук. СПб.: Институт озероведения РАН, Россия.

Корнева Л.Г. 2015. Фитопланктон водохранилищ бассейна Волги. Кострома: Костромской печатный дом.

Корнева Л.Г. 2022. Динамика и распределение миксотрофных фитофлагеллят в крупных равнинных водохранилищах бассейна Волги. В: Актуальные проблемы планктонологии. IV Всероссийская конференция с международным участием. Тезисы докладов, Светлогорск, 25–30 сентября 2022 года. Калининград: Калининградский государственный технический университет, С. 107–110.

Корнева Л.Г., Лазарева В.И., Минеева Н.М. и др. 2019. Состояние и динамика биологических сообществ Рыбинского водохранилища в условиях изменения климата. Журнал Сибирского федерального университета. Серия: Биология 12 (2): 160-179. DOI: 10.17516/1997-1389-0037

Кулизин П.В., Воденеева Е.Л., Охапкин А.Г. 2020. Опыт использования функциональной классификации фитопланктона для оценки качества воды некоторых левобережных притоков р. Волги (бассейн Чебоксарского водохранилища). Принципы экологии 9 (2): 48–59. DOI: 10.15393/j1.art.2020.9582

Матарзин Ю.М., Мацкевич И.К. 1970. Вопросы морфометрии и районирования водохранилищ. В: Вопросы формирования водохранилищ и их влияния на природу и хозяйство. Вып. 1. Пермь: Пермский государственный ун-т., С. 27–45.

Метеосервис. [Электронный ресурс]. 2026. URL: https://www.meteoservice.ru (дата обращения 11.02.2026)

Методика изучения биогеоценозов. 1975. Москва: Наука.

Михалев В.В., Мацкевич И.К., Белобородов А.В. 2011. Современная морфометрия Воткинского водохранилища. Водное хозяйство России: проблемы, технологии, управление 1: 23–32. DOI: 10.35567/1999-4508-2011-1-2

Мэгарран Э. 1992. Экологическое разнообразие и его измерение. Москва: Мир.

Прошкина-Лавренко А.И. 1953. Диатомовые водоросли – показатели солености воды. В: Диатомовый сборник. Ленинград, С. 186–205.

Старцева Н.А., Гаврилко Д.Е., Ерина О.Н. и др. 2022. Экспресс-оценка качества воды устьевого участка р. Казанка (г. Казань) по альгологическим показателям. В: Актуальные проблемы планктонологии: IV Всероссийская конференция с международным участием. Тезисы докладов, Светлогорск, 25–30 сентября 2022 года. Калининград: Калининградский государственный технический университет, С. 197–200.

Сукцессии биоценозов Бухтарминского водохранилища. 2009. Омск: Омский государственный аграрный ун-т.

Таусон А.О. 1947. Водные ресурсы Молотовской области. Молотов.

Третий оценочный доклад об изменениях климата и их последствиях на территории Российской Федерации. Общее резюме. 2022. СПб.: Наукоемкие технологии.

Третьякова С.А. 1989. Фитопланктон Камских водохранилищ. В: Гидробиологическая характеристика водоемов Урала. Свердловск, С. 58–69.

Третьякова С.А., Головачева С.И., Батова Е.М. 1988. Фитопланктон. В: Биология Воткинского водохранилища. Иркутск. С. 26–36, 153–157.

Штина Э.А. 1941. Сезонные изменения фитопланктона реки Камы у г. Оханска по наблюдениям 1939 и 1940 гг. В: Известия Биологическо НИИ при Пермском государственном университете 12 (2): 35-52.

Bazhenova O.P., Mikhailov V.V. 2021. Phytoplankton As an Indicator of the Modern Ecological State of the Novosibirsk Reservoir. Inland Water Biology 14: 670–678. DOI: 10.1134/S1995082921050023

Guiry M.D., Guiry G.M. 2025. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. URL: http://www.algaebase.org (дата обращения 20.11.2025).

Korneva L.G., Glushchenko G.Yu. 2020. Composition and Seasonal Succession of Phytoplankton of Taganrog Bay in the Sea of Azov and the Downstream Reaches of the Don River under a Changing Climate. Inland Water Biology 13: 23–30. DOI: 10.1134/S1995082920010071

Korneva L.G., Solovyeva V.V. 2021. Dynamics of Morphofuncitonal Groups of Phytoplankton in the Rybinsk Resrevoir and Assessment of the Resevoir Water Quality by the Community Index. Water Resources 48 (1): 65–72. DOI: 10.1134/S0097807821010206

Korneva L.G., Solovyova V.V., Makarova O.S. 2025. Current state of phytoplankton in the Volga, Kama, Don, and Volga–Don canal reservoirs (summer 2015–2018) under conditions of a changing climate and continuing eutrophy. Inland Water Biology 18 (1): 26-44. DOI: 10.1134/s1995082925700026

Le Moal M., Pannard A., Brient L. et al. 2021. Is the Cyanobacterial Bloom Composition Shifting Due to Climate Forcing or Nutrient Changes? Example of a Shallow Eutrophic Reservoir. Toxins (Basel) 13 (5): 351. DOI: 10.3390/toxins13050351

Long S., Hamilton P.B., Yang Y. et al. 2018. Multi-year succession of cyanobacteria blooms in a highland reservoir with changing nutrient status, Guizhou Province, China. Journal of Limnology 77 (2): 232–246. DOI: 10.4081/jlimnol.2018.1636

Luong H.A., Rohlfs A.M., Facey J.A. et al. 2024. Long-term study of phytoplankton dynamics in a supply reservoir reveals signs of trophic state shift linked to changes in hydrodynamics associated with flow management and extreme events. Water Research 256: 121547. DOI: 10.1016/j.watres.2024.121547

Maavara T., Lauerwald R., Regnier P. et al. 2017. Global perturbation of organic carbon cycling by river damming. Nature Communications 8: 15347. DOI: 10.1038/ncomms15347

Marvan P., Marsalek B., Hetesa J. et al. 2005. Comments on the revised tables of algal (and other botanical) water quality indicators listed in CSN 75 7716 – discussion material for assessment of trophic status of water bodies. Association Flos Aquae. Supplement. Centre for Cyanobacteria and Their Toxins. URL: http://www.sinice.cz/res/file/scientific/trophicstatus-list.pdf (дата обращения 20.11.2025).

Mineeva N.M., Lazareva V.I., Poddubnyi S.A. et al. 2024. Structure and Functioning of Plankton Communities in the Rybinsk Reservoir under the Conditions of Climate Change. Inland Water Biology 17 (1): 114–129. DOI: 10.1134/S1995082924010127

Padisák J., Borics G., Grigorszky I. et al. 2006. Use of phytoplankton assemblages for monitoring ecological status of lakes within the Water Framework Directive: the assemblage index. Hydrobiologia 553: 1–14.

Padisák J., Crossetti L.O., Naselli-Flores L. 2009. Use and misuse in the application of the phytoplankton functional classification: a critical review with updates. Hydrobiologia 1 (621): 1–19. DOI: 10.1007/s10750-008-9645-0

Pantle R., Buck H. 1955. Die biologische Uberwachung der Gewaesser und die Darstellung der Ergebnisse. Gasund Wasserfach 96 (18): 604–618. (in German)

Reynolds C.S., Huszar V., Kruk C. et al. 2002. Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. Journal of Plankton Research 24(5): 417–428. DOI: 10.1093/plankt/24.5.417

Rosowski J. 2003. Photosynthetic euglenoids. Freshwater Algae of North America. Ecology and Classification. Elsevier Sc.: Acad. Press.

Rühland K., Paterson A.M., Smol J.P. 2008. Hemispheric scale patterns of climate-related shifts in planktonic diatoms from North American and European lakes. Global Change Biology 14 (11): 2740–2754. DOI: 10.1111/j.1365-2486.2008.01670.x

Sakharova E.G., Korneva L.G. 2018. Phytoplankton in the Littoral and Pelagial Zones of the Rybinsk Reservoir in Years with Different Temperature and Water-Level Regimes. Inland Water Biology 11 (1): 6–12. DOI: 10.1134/S1995082918010157

Sharagina E.M., Kulizin P.V., Startseva N.A. et al. 2024. Dominant species and functional complexes of phytoplankton of some unique karst lakes of the Middle Volga basin. Limnology and Freshwater Biology 3: 195–220. DOI: 10.31951/2658-3518-2024-A-3-195

Sládeček V. 1973. System of Water Quality from the Biological Point of View. Archiv für Hydrobiologie: Beihefte. Ergebnisse der Limnologie. Heft 7. (in German)

Sládečeková A., Sládeček V. 1993. Bioindication within the aquatic environment. Acta Universitatis Carolinae. Environmentalica 7 (1–2): 3.

Sterner R.W., Rein K.L., Lafrancois et al. 2020. A first assessment of cyanobacterial blooms in oligotrophic Lake Superior. Limnology and Oceanography 65 (12): 2984–2998. DOI: 10.1102/lno.11569

Suikkanen S., Laamanen M., Huttunen M. 2007. Long-term changes in summer phytoplankton communities of the open northern Baltic Sea. Estuarine, Coastal and Shelf Science 71(3–4): 580–592. DOI: 10.1016/j.ecss.2006.09.004

Wells M.L., Trainer V.L., Smayda T.J. et al. 2015. Harmful algal blooms and climate change: Learning from the past and present to forecast the future. Harmful Algae 1 (49):68-93. DOI: 10.1016/j.hal.2015.07.009

Original Article
LIMNOLOGY FRESHWATER BIOLOGY

The phytotoxicity of non-protein amino acids beta-N-methylamine-L-alanine and meta-tyrosine against cyanobacteria and microalgae

Safronova N.A.[1], Vorobeva E.A.[2], Koksharova O.A.[1]*

[1] Lomonosov Moscow State University, Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Leninskie Gory, 1-40, 119991 Moscow, Russian Federation
[2] Faculty of Physics, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory, 1-2, Moscow, 119991, Russian Federation

ABSTRACT. Algae and cyanobacteria synthesize various non-protein amino acids, whose biological functions and mechanisms of action still remain insufficiently studied. Some non-protein amino acids synthesized by plants and microalgae such as beta-N-methylamino-L-alanine (BMAA) and meta-tyrosine (m-tyrosine) exhibit strong allelopathic effects on the growth and development of plants, algae, and cyanobacteria. The phytotoxicity of these amino acids has attracted attention toward them as potential bioherbicides. Proteomics, transcriptomics, and biophysical methods used in photosynthesis research have enabled the identification of key biological effects of BMAA and m-tyrosine on cyanobacterial and microalgal cells. Both amino acids alter the expression of proteins involved in photosynthesis, ribosomal proteins, amino acid metabolism enzymes, oxidative stress related proteins, chaperones, cell division proteins, and numerous other proteins whose function remains unknown. Research on the specific mechanisms of action of these molecules on various stages of photosynthesis is still in its infancy. This review aim is to draw attention of algologists, microbiologists, and biophysicists to the phytotoxic effect of non–protein amino acids on cyanobacteria and microalgae cells in order to encourage further in-depth experimental study of their mechanisms of action.

Keywords: Cyanobacteria, microalgae, non-protein amino acids, phytotoxicity, allelopathy, photosynthesis

For citation: Safronova N.A., Vorobeva E.A., Koksharova O.A. The phytotoxicity of non-protein amino acids beta-N-methylamine-L-alanine and meta-tyrosine against cyanobacteria and microalgae // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - P. 241-257. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-241

1. Introduction

Non-protein amino acids are synthesized by plants and microorganisms (Vranova et al., 2011, Huang et al., 2011), but unlike the twenty canonical amino acids which are used by ribosomes for protein synthesis, they are not encoded in the genome and are not incorporated into proteins. It is known that non-protein amino acids are biologically active molecules that serve as allelopathic agents, helping organisms that synthesize them to fight competitors and enemies (Staszek et al., 2017). It is also known that non-protein amino acids help organisms adapt to environmental changes. For example, by acting as phytosiderophores, they bind iron and zinc, allowing microbial cells to absorb these metals – which is especially important when these metals are deficient (Shenker et al., 2001). In microorganisms, non-protein amino acids serve as building blocks for the synthesis of small bioactive peptides, conferring resistance to proteases and providing them with biological activity (Walsh et al., 2013; Nunn and Codd, 2019; Goettig et al., 2023). These compounds also serve as a nitrogen reserve and can perform protective functions by binding ammonium that accumulates during protein degradation in cells (Casagrande and Given, 1980). Algae and cyanobacteria synthesize various non-protein amino acids (Cox et al., 2005; Jiang et al., 2014; Violi et al., 2019; Tarakhovskaya et al., 2025), whose biological functions and mechanisms of action require detailed study and systematic investigation. It should be noted that the allelopathic effects of some plant-synthesized non-protein amino acids – including meta-tyrosine (m-tyrosine), its isomer L-DOPA (L-3,4-dihydroxyphenylalanine), gamma-aminobutyric acid (GABA), beta-N-methylamino-L-alanine (BMAA) and its structural isomers 2,4-diaminobutyric acid

*Corresponding author. E-mail address: koksharova@genebee.msu.ru (O.A. Koksharova)

Received: May 18, 2026;
Accepted after revised: July 28, 2026;
Available online: August 28, 2026

© Author(s) 2026. This work is distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

(2,4-DAB) and N-(2-aminoethyl)glycine (AEG), – have been demonstrated on the growth and development of plants, algae and cyanobacteria (Brenner et al., 2000; 2009; Matsumoto, 2011; Zer et al., 2020; 2025; Jander et al., 2020; Li et al., 2021; Balfagón et al., 2022). In this short review, we will examine examples of the biological action of two non-protein amino acids, BMAA and m-tyrosine, on cyanobacterial and algal cells and discuss possible mechanisms of their toxic effects based on the few recent proteomic and metabolomic studies.

2. The biological action of beta-N-methylamino-L-alanine on cyanobacterial and algal cells

The non-protein amino acid beta-N-methylamino-L-alanine (BMAA) (Fig. 1) is synthesized by cyanobacteria, microalgae (diatoms and dinoflagellates), and plants (Cox et al., 2005; Marler et al., 2010; Jiang et al., 2014; Lage et al., 2014; Violi et al., 2019). This neurotoxic amino acid accumulates in food chains, which can lead to the development of neurodegenerative diseases in humans and animals. BMAA exhibits pleiotropic effects, causing damage in the cells of various organisms. It induces oxidative stress in cyanobacterial, plant, and animal cells, leads to disturbances in plant morphogenesis, inhibits cell differentiation, nitrogen fixation and photosynthesis in cyanobacterial cells, and possesses genotoxicity (Lobner et al., 2007; Esterhuizen-Londt et al., 2011; Nunn, 2017; Gerić et al., 2019; Koksharova and Safronov, 2022b). The neurotoxicity of BMAA for animals and humans has sparked considerable interest among researchers in the search for this amino acid in natural samples, the development of methods for its detection and identification, and the study of its mechanisms of action in animals and humans (for a review, see Koksharova and Safronov, 2022b).

The question of the physiological significance of BMAA for cyanobacteria themselves has been raised and investigated in several experimental studies (Downing et al., 2011; 2012; 2015; Berntzon et al., 2013; Popova et al., 2018a; 2018b; Koksharova et al., 2020a; 2020b; 2021). In pioneering work (Downing et al., 2011) using the stable nitrogen isotope ^{15}N, liquid chromatography, and mass spectrometry, it was found that BMAA is formed in cells of the unicellular non-diazotrophic cyanobacteria *Synechocystis* sp. J341 and *Microcystis* sp. PCC7806 during nitrogen starvation and rapidly disappears from cyanobacterial cells when bound nitrogen is added to them in the form of ammonium or nitrate. It turned out that the response to ammonium addition to the growth medium was faster than to nitrate addition. This allowed the authors to suggest that ammonium addition is the direct cause of the observed decrease in BMAA content in cyanobacterial cells. These data indicated a physiological role for BMAA related to adaptation to nitrogen starvation conditions. In a subsequent study (Downing et al., 2012), it was found that the addition of exogenous BMAA at concentrations of 4.2 μM and above caused chlorosis and reduced the growth rate of *Synechocystis* sp. at an illumination intensity of 16 μmol m^{-2} s^{-1}. When cultures

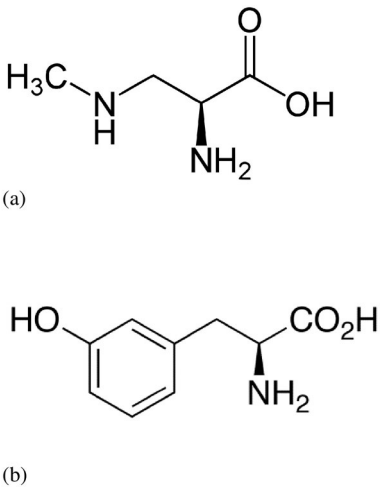


Fig.1. Non-protein amino acids: (a) beta-(N-Methylamino)-L-alanine (BMAA); (b) L-m-tyrosine.

experiencing chlorosis were transferred to conditions of lower light intensity (10 μmol m^{-2} s^{-1}), they resumed growth and restored pigmentation after one week (Downing et al., 2012). These data indicate reversible inhibition of photosynthesis by disrupting the function or integrity of the photosystems. In a subsequent brief study, Downing et al. (2015), used biophysical methods to study chlorophyll fluorescence, and examined the effect of exogenous microcystin and BMAA on photosynthesis in *Synechocystis* sp. PCC 6803 cells was studied. By analyzing the parameters of variable chlorophyll fluorescence, the authors of the study suggested that the addition of BMAA to cyanobacteria cells reduces the flow of electrons through PSII, inhibiting electron transport within the plastoquinone pool, whereas the action of microcystin inhibits oxygen release. Based on these results, the authors proposed a hypothetical model of the possible physiological roles of microcystin and BMAA in preventing damage caused by high light intensity, both in the absence and in the presence of sufficient nitrogen, given that microcystins are synthesized naturally in cyanobacterial cells under conditions of nitrogen excess, and BMAA under conditions of nitrogen deficiency (Scott et al., 2014). According to this model, under conditions of nitrogen excess, microcystins are synthesized and provide protection against the sudden occurrence of oxidative stress caused by high light intensity, suppressing excessive oxygen release. Under conditions of nitrogen deficiency, BMAA is synthesized, which protects the cell from oxidative stress in the absence of microcystins, probably by inhibiting photosynthesis at the plastoquinone level. The authors note that this can occur, for example, when cells dry out, when the lack of sufficient nitrogen prevents the maintenance of cellular components damaged by reactive oxygen species (Downing et al., 2015). During drying, cells are unable to synthesize new proteins, and enzymes involved in nitrogen metabolism can be destroyed. However, these hypothetical models need careful experimental verification.

The work of Berntzon et al. (2013) was the first to show inhibition of nitrogenase (nitrogen-fixing enzyme) activity upon addition of BMAA to cells of the nitrogen-fixing filamentous cyanobacterium *Nostoc (Anabaena)* sp. PCC 7120. In our studies (Popova et

al., 2018a; 2018b), we confirmed the inhibitory effect of BMAA on nitrogenase activity of this cyanobacterium and investigated the biological action of BMAA on *Nostoc* sp. PCC 7120 cells in more detail using fluorescence microscopy and transcriptomics. At first, an unusual regulatory effect of BMAA on the formation of specialized cells (heterocysts), which are necessary for atmospheric nitrogen fixation in this cyanobacterium, was discovered (Popova et al., 2018a). It turned out that the addition of micromolar amounts of this amino acid to nitrogen-starved cyanobacterial cells led to the abolition of heterocyst differentiation, which was a consequence of blocking the expression of genes specific to this process (Popova et al., 2018b). Subsequent proteomic studies revealed that this amino acid at micromolar concentration (20 μM) exerts a pleiotropic effect on major physiological processes in *Nostoc* sp. PCC 7120 cells (Koksharova et al., 2020a; 2020b; 2021). These include protein translation, nitrogen fixation, photosynthesis, DNA repair, iron and bicarbonate transport, glycolysis, and amino acid metabolism (Fig. 2). Various biosynthetic processes can probably be considered as primary targets for the action of BMAA, the regulation of which involves 2-oxoglutarate, glutamate, regulatory proteins PII and NtcA (Koksharova et al., 2021).

We will focus our attention on the changes that occur under the influence of BMAA in the expression of proteins involved in the light and dark reactions of photosynthesis. It should be noted that this amino acid strongly influences the composition of protein complexes of both photosystems and of the electron transport complexes between photosystems in *Nostoc* sp. PCC 7120 cells incubated under three different growth conditions (Koksharova et al., 2020a; 2020b; 2021). The effect of BMAA on the cyanobacterial photosystems differed depending on the nitrogen supply to the cells (Koksharova and Safronov, 2022a).

Under nitrogen-starvation conditions, when cyanobacterial filaments consisting only of vegetative cells were washed from nitrogen-rich medium and transferred for 48 h to nitrogen-free growth medium, photosystem I proved to be the most vulnerable. Under these conditions, the expression of key components of photosystem I (PsaA, PsaB, and PsaF proteins), plastocyanin (PetE), and some pigment complex proteins was markedly reduced (Table 1). The expression of PsaA protein (photosystem I P700 chlorophyll a apoprotein A1) was reduced almost three-fold, and the expression of PsaB protein (photosystem I P700 chlorophyll a apoprotein A2) was reduced almost four-fold. These two proteins are encoded by two adjacent co-expressed genes, *alr5154* and *alr5155*. At the same time, the expression of one photosystem II protein (13 kDa protein, PsbW) and the PetC protein (iron-sulfur subunit of the cytochrome b6f complex) was increased (Table 1). This is likely a manifestation of a possible compensatory mechanism in cyanobacterial cells under the action of BMAA. In *Arabidopsis* plants, it was shown (García-Cerdán et al., 2010) that PsbW protein is necessary for the formation of a stable structure of the PSII protein complex. In the absence of PsbW protein in a plant mutant for this gene, ordered arrays of semicrystalline macrodimains of PSII-LHCII supercomplexes cannot be formed. This, in turn, leads to reduced energy transfer efficiency between PSII subunits and a delayed PSII response to light stress (García-Cerdán et al., 2010). It can be assumed that the increase in PsbW protein to a detectable level in the proteome of BMAA-treated *Nostoc* sp. PCC 7120 cells serves to stabilize PSII protein complexes, which likely explains why no substantial changes in proteins of this photosystem were detected in the cyanobacterial proteome under these conditions (Table 1). Discussing the results of proteomic analysis of BMAA action under nitrogen starvation of *Nostoc* cyanobacteria, it should be noted that there were not only significant changes in the abundance of proteins representing key components of the photosynthetic apparatus, but also a decrease in the level of the regulatory protein PII (GlnB, all2319) (Koksharova et al., 2020a), whose functioning determines the cellular balance between nitrogen and carbon metabolism in cyanobacteria (Forchhammer and Selim, 2019). In this regard, it is noteworthy that the regulatory protein PII is covalently modified under conditions of unbalanced photosynthetic electron transport in the cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC 7942, when PSII predominates over PSI (Tsinoremas et al., 1991). In that work,

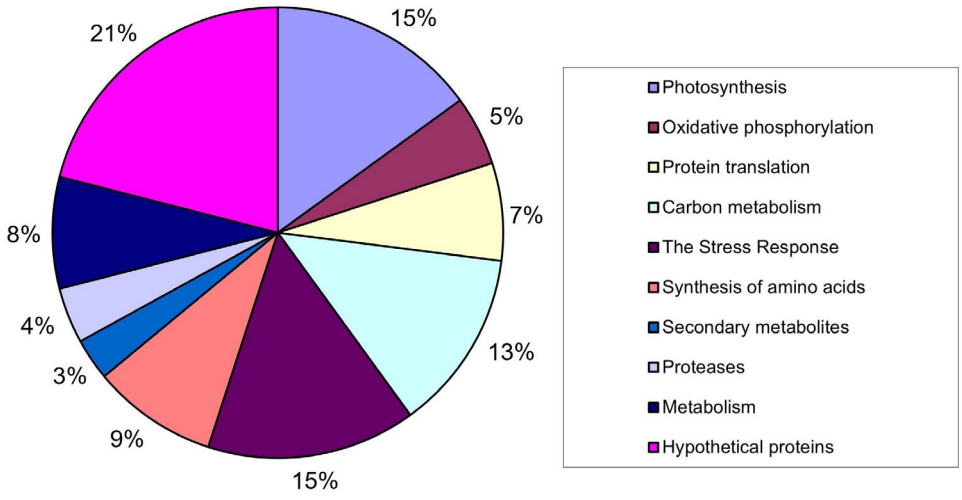


Fig.2. Functional categories of proteins with altered expression in the proteome of the cyanobacterium *Nostoc* sp. PCC 7120 under the action of BMAA. The diagram is based on data from (Koksharova et al., 2021).

Table 1. Phytotoxic effect of BMAA on the protein content in the proteome of cyanobacterium *Nostoc* sp. PCC 7120*

Protein complex/process	Cell growing conditions		
	Nitrogen-free growth medium Diazotrophic growth	Medium with nitrogen (sodium nitrate)	Nitrogen starvation (48 hours without nitrogen)
PS1			
PsaE Photosystem I reaction center subunit IV, *asr4319*	65%	69%	
PsaL Photosystem I reaction center subunit XI, *all0107*	69%		
PsaA Photosystem I P700 chlorophyll a apoprotein A1, *alr5154*			38%
PsaB Photosystem I P700 chlorophyll a apoprotein A2, *alr5155*			26%
PsaF Photosystem I subunit III precursor, *all0109*			61%
PS2			
Protein D1, psbA1 *alr4866,alr4592, alr3727,alr3742, all3572*	56%		
CP47, psbB *all0138*	75%	82%	
Protein D2, psbD *alr4548*, *alr4290*	62%		
PsbO protein stabilizer of the manganese cluster, *all3854*	81%		
Protein 13 kDa, PsbW *all0801*			**
Cytochrome c-550 PsbV, *all0259*		71%	
PetB (Rieske iron-sulfur protein), as part of the cytochrome complex *b6f*, *alr3421*	62%		
PetC Cytochrome b6-f complex iron-sulfur subunit 1, *all2453*	43%		175%
CytA cytochrome c6, *alr4251*	169%		
Pet E Plastocyanin, *all0258*			58%
PetH Ferredoxin--NADP(+) reductase, *all4121*	72%		
NdhH NADH dehydrogenase subunit 7, *alr3355*	60%		
Enzymes of porphyrin and chlorophyll synthesis			
HemB, [EC:4.2.1.24] Porphobilinogen synthase, *alr4380*			51%
HemC, [EC:2.5.1.61 Porphobilinogen deaminase, *alr1878*	47%		
HemH, [EC:4.99.1.1] ferrochelatase, *alr3751*	53%		
light-dependent protochlorophyllide reductase [EC:1.3.1.33], *all1743*	61%		
Mg-protoporphyrin IX monomethyl ester (oxidative) cyclase [EC:1.14.13.81], alr*3300*	52%		

Note:

*The relative content of photosynthetic proteins in the proteomes of BMAA-treated (20 micromoles) cells compared with the proteomes of untreated (control) cyanobacteria cells is shown. The protein content in the control is assumed to be 100%. The table is based on the results obtained in the works (Koksharova et al., 2020a,b; 2021).

** The PsbW protein is identified to detectable values only in BMAA-treated cells of *Nostoc* sp. PCC 7120 (Koksharova et al., 2021).

the authors suggested that the photosynthetic electron transport chain may regulate the nitrogen assimilation pathway in cyanobacterial cells via post-translational modification of the PII protein. Thus, as can be seen from the results of the proteomic study (Koksharova et al., 2020a), under nitrogen-starvation conditions photosystem I is the most vulnerable to BMAA (Table 1).

Under diazotrophic growth conditions, where the cyanobacterium *Nostoc* sp. PCC 7120 grows in nitrogen-free medium and atmospheric nitrogen fixation occurs in its specialized heterocyst cells, it was found that the addition of a micromolar concentration of BMAA to cyanobacterial cells altered the abundance of nineteen photosynthetic proteins and six proteins functioning in oxidative phosphorylation (Koksharova et al., 2021). In the presence of BMAA, a sharp decrease was observed in the expression of proteins functioning in both photosystems – PSI and PSII complexes – as well as in the cytochrome b6f complex and in the antenna pigment complexes (Table 1). The addition of BMAA to cyanobacterial cells led to reduced expression of two proteins of the PSI reaction center (subunits IV and XI), four key proteins of PSII (D1, D2, CP47, and PsbO), and five protein components of the phycobilisome light-harvesting antennas of PSII. The abundance of enzyme proteins (HemC, HemH, protochlorophyllide oxidoreductase, and magnesium-protoporphyrin IX monomethyl ester (oxidative) cyclase) involved in porphyrin and chlorophyll synthesis was markedly reduced. Thus, the phytotoxicity of BMAA is particularly pronounced under diazotrophic growth conditions of cyanobacteria.

In *Nostoc* cells grown on nitrogen-rich medium, photosynthetic proteins were only slightly affected by BMAA. In cells grown in nitrogen-excess medium, the expression of five proteins involved in photosynthesis was reduced by approximately 70-80%, whereas two proteins (CpcB and CpcG4) of the light-harvesting complexes showed increased expression in the presence of BMAA. Among the downregulated proteins were cytochrome c-550 (PsbV, *all0259*), PSI subunit IV (PsaE, *asr4319*), PSII protein CP47 (PsbB, *all0138*), phycobilisome core component ApcF (*all2327*) and the beta subunit of F0F1 ATP synthase (*all5039*) (Koksharova et al., 2020b).

These results demonstrate a significant effect of BMAA, under conditions of nitrogen deficiency in the growth medium, on cyanobacterial protein complexes functioning in the light reactions of photosynthesis. Furthermore, BMAA also reduces the level of proteins involved in the dark reactions of photosynthesis, namely in CO_2 fixation and other carbon metabolism processes (Koksharova et al., 2020a). This points to an important functional role for BMAA in the life of cyanobacteria, which is consistent with the hypothesis that this amino acid may be used by microalgae in various ecosystems as an allelopathic tool to control cyanobacterial populations during periods of intense competition for nitrogen sources and other resources (Koksharova et al., 2020a; 2021).

Diatoms, like cyanobacteria, produce BMAA (Jiang et al., 2014). Synthesis of this amino acid in diatoms is induced by iron deficiency (Zheng et al., 2025), biotic stresses (Kim et al., 2026) and decreased incubation temperature (Zheng et al., 2026a). It was shown that the addition of exogenous BMAA to cells of the diatoms *Phaeodactylum tricornutum* and *Thalassiosira weissflogii* leads to ammonium secretion from cells into the growth medium (Lage et al., 2016), indicating the vulnerability of nitrogen metabolism to the action of BMAA. This amino acid, when added to cells of the diatom *Phaeodactylum tricornutum*, induces oxidative stress and affects photosynthesis and nitrogen metabolism (Kim et al., 2022). Notably, BMAA also suppresses expression of the *rbcL* gene encoding the large subunit of RuBisCO in the diatom *Phaeodactylum tricornutum* (Kim et al., 2022). BMAA exposure led to growth inhibition of the marine microalga *Isochrysis galbana*, reduced chlorophyll a synthesis, reduced photosystem II activity, decreased transcription of genes responsible for proteins of both photosystems, the enzyme glutamine synthetase and nitrate transporters, and inhibited the cell cycle of this alga (Li et al., 2023). The use of transcriptomics methods in this study revealed changes in the transcription of genes encoding various proteins related to the functioning of the oxygen-releasing complex PSII, the core of the complex and subunit IV PSI, the cytochrome b6f complex, ferredoxin and the F-type ATPase subunit under the influence of BMAA, which reduced the quantum yield of PSII and the rate of electron transfer. The transcriptomic data obtained for diatoms are in good agreement with the proteomics data previously obtained for the cyanobacterium *Nostoc* sp. PCC7120 (Koksharova et al., 2020a; 2021). Together, all these studies show that BMAA exhibits phytotoxicity and inhibits the growth of various groups of microalgae, negatively affecting the activity of nitrogen metabolism, photosynthesis, and increasing oxidative stress.

3. Phytotoxicity of meta-tyrosine

Meta-tyrosine (m-Tyr) (Fig. 1), an analogue of the aromatic amino acids tyrosine and phenylalanine, exhibits strong but selective phytotoxicity (Zer et al., 2020; 2025). Its toxicity has been demonstrated for plants (Bertin et al., 2007; 2009; Matsumoto, 2011; Andrzejczak et al., 2018; Staszek and Gniazdowska, 2020; Zer et al., 2020), and for the cyanobacteria *Synechocystis* sp. PCC 6803 and *M. aeruginosa*, but was not found, for example, for the heterotrophic bacteria *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* (Zer et al., 2025). Some terrestrial plants, such as *Euphorbia myrsinites* or *Festuca rubra*, can produce high levels of m-Tyr in their root tissues and excrete it, suppressing the growth of other plants nearby (Bertin et al., 2007; Zer et al., 2020). In addition to plants, m-Tyr can also be produced enzymatically by phenylalanine meta-hydroxylase in cells of the bacterium *Streptomyces coeruleorubidus* and, presumably, by other bacteria that may contain this enzyme (Gruschow et al., 2020). Notably, *Streptomyces coeruleorubidus* is a bacterial species from the genus *Streptomyces* that was isolated from marine sediments (Kumar et al., 2012).

Cyanobacterial cells are highly sensitive to micromolar concentrations of m-Tyr (Zer et al., 2025). In m-Tyr-treated cyanobacterial cells, amino acid homeostasis is altered. Proteomic studies have revealed that phenylalanyl-tRNA synthetase (PheRS) mistakenly incorporates m-Tyr into proteins of the unicellular cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. Such substitutions likely lead to protein aggregation and impaired function. This effect is particularly pronounced for ribosomal proteins (27%) and proteins involved in photosynthesis (21.9%) (Fig. 3).

Synechocystis PCC 6803 cells treated with m-Tyr exhibit changes in photosynthetic activity and in the process of protein synthesis. These changes correlate with growth retardation of the cyanobacterium and with morphological changes in cells upon the addition of micromolar concentrations of m-Tyr. At higher amino acid concentrations, increased cell death of *Synechocystis* PCC 6803 is observed. It is likely that cyanobacteria cannot metabolize m-Tyr into a non-toxic metabolite (Zer et al., 2025). The functional role of this non-protein amino acid in cyanobacteria and microalgae cells has so far been studied to a lesser extent than the role of BMAA. Nevertheless, proteomic studies of the biological effects of each amino acid on cyanobacterial cells have revealed analogies. Both amino acids alter the expression of proteins involved in photosynthesis, ribosomal proteins, amino acid metabolism enzymes, oxidative stress proteins, chaperone proteins, cell division proteins, and numerous proteins with unknown functions. A deeper understanding of the mechanisms of action of m-Tyr and BMAA on photosynthesis and other metabolic processes in cyanobacterial and microalgal cells requires additional studies using molecular-genetic, biochemical and biophysical methods.

4. Conclusions

The non-protein amino acids meta-tyrosine and BMAA exhibit pronounced phytotoxicity towards cyanobacterial and microalgal cells. Both amino acids alter cyanobacterial proteomes, changing the amounts of photosynthetic proteins, and affect carbon metabolism and translation processes. The study of the specific mechanisms of action of these molecules on various stages of photosynthesis is still in its early stages. Much remains to be done using various experimental approaches. The identification of the targets of phytotoxic non-protein amino acids in cyanobacterial and algal cells is needed both for fundamental research on primary photosynthetic processes and possible future practical applications. The use of various biophysical methods (spectrophotometric methods, EPR and others), as well as mutagenesis, transcriptomics and proteomics in further studies will contribute to a deeper understanding of the mechanisms of allelopathic action of non-protein amino acids on primary metabolic processes in microalgal cells.

Acknowledgements

The authors were inspired to write this review by the work of the VIII All-Russian Scientific Conference with international participation “Algae: Problems of Taxonomy and Ecology, Use in Monitoring and Biotechnology” September 7-11, 2026, Irkutsk, Listvyanka. The authors are grateful to the Professor Yu.A. Koksharov for discussing the text of the article and for valuable comments. We thank the anonymous reviewers for their valuable comments, which allowed the authors to supplement and refine the text. The study was carried out within the framework of the state assignment of Lomonosov Moscow State University.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

Andrzejczak O., Krasuska U., Olechowicz J. et al. 2018. Destabilization of ROS metabolism in tomato roots as a phytotoxic effect of meta-tyrosine. Plant Physiology and Biochemistry123: 369–377. DOI: 10.1016/j.plaphy.2017.12.024

Balfagón D., Gómez-Cadenas A., Rambla J.L. et al. 2022. γ-Aminobutyric acid plays a key role in plant acclimation to a combination of high light and heat stress. Plant Physiology 188: 2026–2038. DOI: 10.1093/plphys/kiac010

Berntzon L., Erasmie S., Celepli N. et al. 2013. BMAA inhibits nitrogen fixation in the cyanobacterium *Nostoc* sp. PCC 7120. Marine Drugs 11: 3091–3108. DOI: 10.3390/md11083091

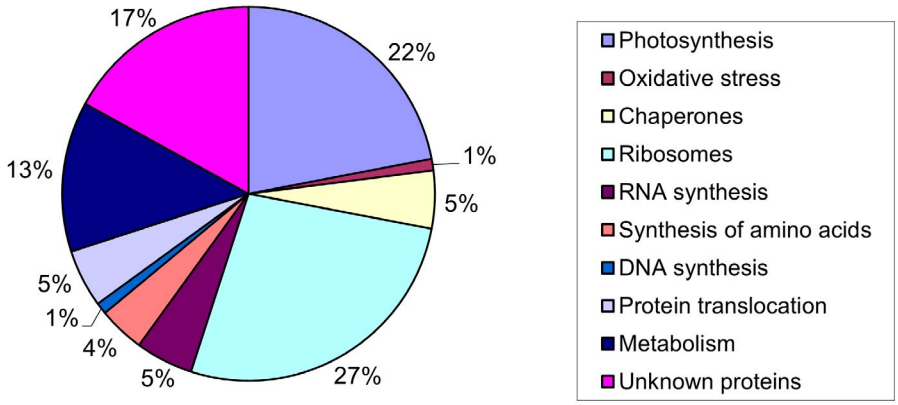


Fig.3. Functional categories of proteins with altered expression in the proteome of the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803 under the action of m-Tyr. The diagram is based on data from (Zer et al., 2025).

Bertin C., Weston L.A., Huang T. et al. 2007. Grass roots chemistry: meta-tyrosine, an herbicidal nonprotein amino acid. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 104(43): 16964–16969. DOI: 10.1073/pnas.0707198104

Bertin C., Harmon R., Akaogi M. et al. 2009. Assessment of the phytotoxic potential of m-tyrosine in laboratory soil bioassays. Journal of Chemical Ecology 35(11): 1288–1294. DOI: 10.1007/s10886-009-9707-4

Brenner E.D., Martinez-Barboza N., Clark A.P. et al. 2000. Arabidopsis mutants resistant to S(+)-beta-methyl-alpha, beta-diaminopropionic acid, a cycad-derived glutamate receptor agonist. Plant Physiology 124: 1615–1624. DOI: 10.1104/pp.124.4.1615

Brenner E.D., Feinberg P., Runko S. et al. 2009. A mutation in the Proteosomal Regulatory Particle AAA-ATPase-3 in Arabidopsis impairs the light-specific hypocotyl elongation response elicited by a glutamate receptor agonist, BMAA. Plant Molecular Biology 70(5): 523–533. DOI: 10.1007/s11103-009-9489-7

Casagrande D.J., Given P.H. 1980. Geochemistry of amino acids in some Florida peat accumulation-II. Amino acid distributions. Geochimica et Cosmochimica Acta 44:1493–1507. DOI: 10.1016/0016-7037(80)90114-3

Cox P.A., Banack S.A., Murch S.J. et al. 2005. Diverse taxa of cyanobacteria produce beta-N-methylamino-L-alanine, a neurotoxic amino acid. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 102(14): 5074–5078. DOI: 10.1073/pnas.0501526102

Downing S., Banack S.A., Metcalf J.S. et al. 2011. Nitrogen starvation of cyanobacteria results in the production of β-N-methylamino-L-alanine. Toxicon 58(2):187–194. DOI: 10.1016/j.toxicon.2011.05.017

Downing S., Van de Venter M., Downing T.G. 2012. The effect of exogenous β-N-Methylamino-L-alanine on the growth of *Synechocystis* PCC6803. Microbial Ecology 63(1): 149–156. DOI: 10.1007/s00248-011-9958-9

Downing T.G., Phelan R.R., Downing S. 2015. A potential physiological role for cyanotoxins in cyanobacteria of arid environments. Journal of Arid Environments 112: 147–151. DOI: 10.1016/j.jaridenv.2014.02.005

Esterhuizen-Londt M., Pflugmacher S., Downing T.G. 2011. The effect of β-N-methylamino-L-alanine (BMAA) on oxidative stress response enzymes of the macrophyte *Ceratophyllum demersum*. Toxicon 57(5): 803–810. DOI: 10.1016/j.toxicon.2011.02.015

Forchhammer K., Selim K.A. 2019. Carbon/nitrogen homeostasis control in cyanobacteria. FEMS Microbiology Reviews 44:33–53. DOI: 10.1093/femsre/fuz025

García-Cerdán J.G., Kovács L., Tóth T. et al. 2010. The PsbW protein stabilizes the supramolecular organization of II in higher plants. Plant Journal 65:368–381. DOI: 10.1111/j.1365-313x.2010.04429.x

Gerić M., Gajski G., Domijan A.M. et al. 2019. Genotoxic effects of neurotoxin β-N-methylamino-l-alanine in human peripheral blood cells. Chemosphere 214: 623–632. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2018.09.155

Goettig P., Koch N.G., Budisa N. 2023. Non-canonical amino acids in analyses of protease structure and function. International Journal of Molecular Sciences 24(18):14035. DOI: 10.3390/ijms241814035

Gruschow S., Sadler J., Sharrat P. et al. 2020. Phenylalanine meta-hydroxylase: a single residue mediates mechanistic control of aromatic amino acid hydroxylation. ChemBioChem 21(3): 417–422. DOI: 10.1002/cbic.201900320

Huang T., Jander G., de Vos M. 2011. Non-protein amino acids in plant defense against insect herbivores: Representative cases and opportunities for further functional analysis. Phytochemistry 72(13): 1531–1537. DOI: 10.1016/j.phytochem.2011.03.019

Jander G., Kolukisaoglu U., Stahl M. et al. 2020. Editorial: Physiological aspects of non-proteinogenic amino acids in plants. Frontiers in Plant Science 11:519464. DOI: 10.3389/fpls.2020.519464

Jiang L., Eriksson J., Lage S. et al. 2014. Diatoms: A novel source for the neurotoxin BMAA in aquatic environments. PLOS ONE 9(1): e84578. DOI: 10.1371/journal.pone.0084578

Kim S.-Y., Rasmussen U., Rydberg S. 2022. Effect and function of β-N-methylamino- L-alanine in the diatom *Phaeodactylum tricornutum*. The Science of the Total Environment 830: 154778. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2022.154778

Kim S.-Y., Son J., Rydberg S. 2026. Effect of biotic stress on diatom neurotoxins: Predation and competition. Journal of Sea Research 211: 102695. DOI: 10.1016/j.seares.2026.102695

Koksharova O.A., Butenko I.O., Pobeguts O.V. et al. 2020. The first proteomic study of *Nostoc* sp. PCC 7120 exposed to cyanotoxin BMAA under nitrogen starvation. Toxins (Basel) 12(5): 310. DOI: 10.3390/toxins12050310

Koksharova O.A., Butenko I.O., Pobeguts O.V. et al. 2020. Proteomic insights into starvation of nitrogen-replete cells of *Nostoc* sp. PCC7120 under BMAA treatment. Toxins (Basel) 12(6): 372. DOI: 10.3390/toxins12060372

Koksharova O.A., Butenko I.O., Pobeguts O.V. et al. 2021. β-N-Methylamino-L-Alanine (BMAA) causes severe stress in *Nostoc* sp. PCC 7120 sells under diazotrophic conditions: a proteomic study. Toxins (Basel) 13(5): 325. DOI: 10.3390/toxins13050325

Koksharova O.A., Safronov N.A. 2022. The effects of secondary bacterial metabolites on photosynthesisin microalgae cells. Biophysical Reviews 14:843–856. DOI: 10.1007/s12551-022-00981-3

Koksharova O.A., Safronov N.A. 2022. Non-proteinogenic amino acid β-N-methylamino-L-alanine (BMAA): bioactivity and ecological significance. Toxins (Basel) 14(8): 539. DOI: 10.3390/toxins14080539

Kumar K.S., Haritha R., Swathi A. et al. 2012. Taxonomy and antimicrobial activity of *Streptomyces coeruleorubidus* sp. isolated from marine sediment. Research Journal of Microbiology 7: 171–181. URL: https://scialert.net/abstract/?doi=jm.2012.171.181

Lage S., Costa P.R., Moita T. et al. 2014. BMAA in shellfish from two Portuguese transitional water bodies suggests the marine dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* as a potential BMAA source. Aquatic toxicology 152: 131–138. DOI: 10.1016/j.aquatox.2014.03.029

Lage S., Strom L., Godhe A. et al. 2016. The effect of exogenous beta-N- methylamino-L-alanine (BMAA) on the diatoms *Phaeodactylum tricornutum* and *Thalassiosira weissflogii*. Harmful Algae 58: 85–92. DOI: 10.1016/j.hal.2016.08.005

Li A., Liu J., Qiu J. et al. 2023. Cell cycle of microalga *Isochrysis galbana* arrested by neurotoxin β-N-methylamino-l-alanine and corresponding molecular mechanisms. Science of The Total Environment 874: 162445. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2023.162445

Li L., Dou N., Zhang H. et al. 2021.The versatile GABA in plants. Plant signaling and behavior 16(3):1862565. DOI: 10.1080/15592324.2020.1862565

Lobner D., Piana P.M.T., Salous A.K. et al. 2007. β-N-Methylamino-l-alanine enhances neurotoxicity through multiple mechanisms. Neurobiology of disease 25:360–366. DOI: 10.1016/j.nbd.2006.10.002

Marler T.E., Snyder L.R., Shaw C.A. 2010. *Cycas micronesica* (Cycadales) plants devoid of endophytic cyanobacteria increase in β-methylamino-l-alanine. Toxicon 56(4): 563–568. DOI: 10.1016/j.toxicon.2010.05.015

Matsumoto H. 2011. The mechanisms of phytotoxic action and selectivity of non-protein aromatic amino acids L-DOPA and m-tyrosine. Journal of Pesticide Science 36(1): 1–8. DOI: 10.1584/jpestics.R10-15

Nunn P.B. 2017. 50 years of research on α-amino-β-methylaminopropionic acid (β-methylaminoalanine). Phytochemistry 144: 271–281. DOI: 10.1016/j.phytochem.2017.10.002

Nunn P.B., Codd G.A. 2019. Environmental distribution of the neurotoxin l-BMAA in Paenibacillus species. Toxicology research 8(6):781–783. DOI: 10.1039/c9tx00203k

Popova A., Rasmussen U., Semashko T. et al. 2018. Stress effects of cyanotoxin β-methylamino-L-alanine (BMAA) on cyanobacterial heterocyst formation and functionality. Environmental microbiology reports 10: 369–377. DOI: 10.1111/1758-2229.12647

Popova A., Semashko T., Kostina N. et al. 2018. The cyanotoxin BMAA induces heterocyst specific gene expression in *Anabaena* sp. PCC 7120 under repressive conditions. Toxins (Basel) 10(11): 478. DOI: 10.3390/toxins10110478

Scott L.L., Downing S., Phelan R.R. et al. 2014. Environmental modulation of microcystin and β-N-methylamino-L-alanine as a function of nitrogen availability. Toxicon 87:1–5. DOI: 10.1016/j.toxicon.2014.05.001

Shenker M., Fan T.W.M., Crowley D.E. 2001. Phytosiderophores influence on cadmium mobilization and uptake by wheat and barley plants. Journal of environmental quality 30: 2091–2098. DOI: 10.2134/jeq2001.2091

Staszek P., Weston L.A., Ciacka K. et al. 2017. l-Canavanine: How does a simple non-protein amino acid inhibit cellular function in a diverse living system? Phytochemistry reviews: proceedings of the Phytochemical Society of Europe 16: 1269–1282. DOI: 10.1007/s11101-017-9536-y

Staszek P., Gniazdowska A. 2020. Peroxynitrite induced signaling pathways in plant response to non-proteinogenic amino acids. Planta 252(1): 5. DOI: 10.1007/s00425-020-03411-4

Tarakhovskaya E., Gulk E., Zamyatkina E. 2025. Non-proteinogenic amino acids from marine macroalgae: diversity, functional roles, and biological activity. Phycologia 64(5): 366–388. DOI: 10.1080/00318884.2025.2545164

Tsinoremas N.F., Castets A.M., Harrison M.A. et al. 1991. Photosynthetic electron transport controls nitrogen assimilation in cyanobacteria by means of posttranslational modification of the glnB gene product. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 88(11): 4565–4569. DOI: 10.1073/pnas.88.11.4565

Violi J.P., Facey J.A., Mitrovic S.M. et al. 2019. Production of β-methylamino-L-alanine (BMAA) and its isomers by freshwater diatoms. Toxins (Basel) 11 (9): 512. DOI: 10.3390/toxins11090512

Vranova V., Rejsek K., Skene K.R. et al. 2011. Non-protein amino acids: plant, soil and ecosystem interactions. Plant Soil 342:31–48. DOI: 10.1007/s11104-010-0673-y

Walsh C.T., O'Brien R.V., Khosla C. 2013. Nonproteinogenic amino acid building blocks for nonribosomal peptide and hybrid polyketide scaffolds. Angewandte Chemie (International ed. in English) 52(28):7098–7124. DOI: 10.1002/anie.201208344

Zheng X., Wu S., Qiu J. et al. 2025. Induction of a neurotoxin in diatoms by iron limitation via cysteine synthase. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 122(24): e2424843122. DOI: 10.1073/pnas.2424843122

Zheng X., Li A., Qiu J. et al. 2026. Physiological and growth responses of marine diatoms under different culture temperature. Water biology and security 5(4): 100533. DOI: 10.1016/j.watbs.2025.100533

Zer H., Mizrahi H., Malchenko N. et al. 2020. The Phytotoxicity of meta-tyrosine is associated with altered phenylalanine metabolism and misincorporation of this non-proteinogenic Phe-analog to the plant's proteome. Frontiers in Plant Science 11:140. DOI: 10.3389/fpls.2020.00140

Zer H., Matan R., Rasin D. et al. 2025. The toxic effects of meta-tyrosine are related to its misincorporation into the proteome and to altered metabolism in cyanobacteria. The FEBS Journal 292(20): 5439–5456. DOI: 10.1111/febs.70154

Оригинальная статья
LIMNOLOGY FRESHWATER BIOLOGY

Фитотоксичность небелковых аминокислот бета-N-метиламин-L-аланина и мета-тирозина в отношении цианобактерий и микроводорослей

Сафронова Н.А.[1], Воробьева Е.А.[2], Кокшарова О.А.[1]*

[1] *Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, МГУ им. М.В. Ломоносова, Ленинские горы, дом 1, строение 40, Москва, 119992, Российская Федерация*
[2] *Физический Факультет МГУ им. М.В.Ломоносова, Ленинские горы, дом 1, строение 2 Москва, 119991, Российская Федерация*

АННОТАЦИЯ. Водоросли и цианобактерии синтезируют разнообразные небелковые аминокислоты, биологические функции и механизмы действия которых еще недостаточно изучены. Некоторые небелковые аминокислоты, синтезируемые растениями и микроводорослями, такие, бета-N-метиламин-L-аланин (BMAA) и как мета-тирозин (м-тирозин), проявляют сильное аллелопатическое действие на рост и развитие растений, водорослей и цианобактерий. Фитотоксичность этих аминокислот привлекает к ним внимание исследователей как к потенциальным биогербицидам. Использование методов протеомики, транскриптомики, а также биофизических методов исследования фотосинтеза позволило начать выявлять особенности биологического действия BMAA и м-тирозина на клетки цианобактерий и микроводорослей. Обе аминокислоты изменяют экспрессию белков, участвующих в фотосинтезе, рибосомальных белков, ферментов метаболизма аминокислот, белков окислительного стресса, шаперонов, белков клеточного деления и большого количества белков с неизвестными пока функциями. Процесс изучения конкретных механизмов действия этих молекул на различные этапы фотосинтеза находится пока в самом начале. Цель обзора – привлечь внимание альгологов, микробиологов и биофизиков к фитотоксичному действию небелковых аминокислот на клетки цианобактерий и микроводорослей для последующего более глубокого экспериментального изучения механизмов их действия.

Ключевые слова: Цианобактерии, микроводоросли, небелковые аминокислоты, фитотоксичность, аллелопатия, фотосинтез

Для цитирования: Сафронова Н.А., Воробьева Е.А., Кокшарова О.А. Фитотоксичность небелковых аминокислот бета-N-метиламин-L-аланина и мета-тирозина в отношении цианобактерий и микроводорослей // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - С. 241-257. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-241

1. Введение

Небелковые аминокислоты синтезируются растениями и микроорганизмами (Vranova et al., 2011; Huang et al., 2011), хотя они не кодируются в геноме и не входят в состав белков, в отличие от двадцати канонических аминокислот, используемых рибосомами для белкового синтеза. Известно, что небелковые аминокислоты являются биологически активными молекулами и служат синтезирующим их организмам аллелопатическими средствами в борьбе с конкурентами и врагами (Staszek et al., 2017). Известно также, что небелковые аминокислоты помогают организмам приспосабливаться к изменениям в окружающей среде. Так, в качестве фитосидерофоров они связывают железо и цинк и позволяют клеткам микроорганизмов поглощать эти металлы, что особенно важно при их дефиците (Shenker et al., 2001).

Небелковые аминокислоты в микроорганизмах служат строительными блоками для синтеза небольших биоактивных пептидов, придавая им устойчивость к действию протеаз и наделяя биологической активностью (Walsh et al., 2013; Nunn and Codd, 2019; Goettig et al., 2023). Эти соединения являются резервом азота, а также могут выполнять защитные функции, связывая аммоний, который накапливается при разрушении белков в клетках (Casagrande and Given, 1980). Водоросли и цианобактерии синтезируют разнообразные небелковые

*Автор для переписки. Адрес e-mail: koksharova@genebee.msu.ru (О.А. Кокшарова)

Поступила: 18 мая 2026;
Принята после доработки: 28 июля 2026;
Опубликована online: 28 августа 2026

© Автор(ы) 2026. Эта работа распространяется под международной лицензией Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.

аминокислоты (Cox et al.,2005; Jiang et al., 2014; Violi et al., 2019; Tarakhovskaya et al., 2025), биологические функции и механизмы действия которых требуют детального и систематического изучения. Отметим, что для некоторых небелковых аминокислот, синтезируемых растениями, таких, например, как мета-тирозин (м-тирозин, m-Tyr), его изомер L-DOPA (L-3,4-dihydroxyphenylalanine), гамма-аминомасляная кислота (GABA), бета-N-метиламин-L-аланин (BMAA) и его структурные изомеры 2,4-диаминобутановая кислота (2,4-DAB) и N-(2-аминоэтил) глицин (AEG), было выявлено аллелопатическое действие на рост и развитие растений, водорослей и цианобактерий (Brenner et al., 2000; 2009; Matsumoto, 2011; Zer et al., 2020; 2025; Jander et al., 2020; Li et al., 2021; Balfagón et al., 2022).

В этом кратком обзоре мы рассмотрим примеры биологического действия двух небелковых аминокислот BMAA и м-тирозина на клетки цианобактерий и водорослей и обсудим возможные механизмы их токсичного действия, опираясь на результаты недавних пока немногочисленных протеомных и метаболомных исследований.

Цель обзора – привлечь внимание альгологов, микробиологов и биофизиков к фитотоксичному действию небелковых аминокислот на клетки цианобактерий и микроводорослей для последующего более глубокого экспериментального изучения механизмов их действия, в частности, на процесс фотосинтеза.

2. Биологическое действие BMAA на клетки цианобактерий и водорослей

Небелковая аминокислота, BMAA (Рис. 1), синтезируется цианобактериями, микроводорослями (диатомовыми водорослями и динофлагеллятами) и растениями (Cox et al., 2005; Marler et al., 2010; Jiang et al., 2014; Lage et al., 2014; Violi et al., 2019). Эта нейротоксичная аминокислота накапливается в пищевых цепях, что может приводить к развитию нейродегенеративных заболеваний у человека и животных. BMAA обладает плейотропным действием, приводя к многочисленным повреждениям в клетках различных организмов. Она вызывает индукцию окислительного стресса в клетках цианобактерий, растений и животных, приводит к нарушениям морфогенеза растений, вызывает ингибирование клеточной дифференцировки, азотфиксации и фотосинтеза в клетках цианобактерий, обладает генотоксичностью (Lobner et al., 2007; Esterhuizen-Londt et al., 2011; Nunn, 2017; Gerić et al., 2019; Koksharova and Safronov, 2022b). Нейротоксичность BMAA для животных и человека вызвала живой интерес исследователей к поиску этой аминокислоты в природных объектах, к разработке методов ее идентификации, к изучению механизмов действия на организмы животных и человека (для обзора Koksharova and Safronov, 2022b).

Вопрос о физиологическом значении BMAA для самих цианобактерий поднимался и исследовался в нескольких экспериментальных работах

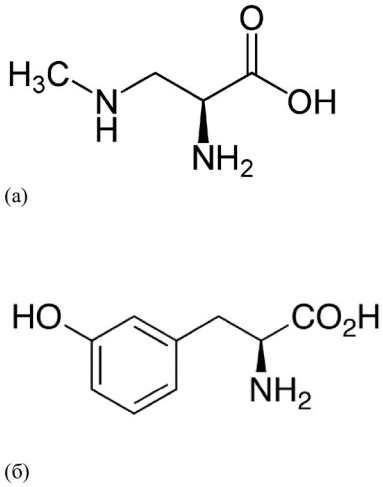


Рис.1. Небелковые аминокислоты: (а) бета-(N-метиламин)-L-аланин (BMAA); (б) L-m-тирозин.

(Downing et al., 2011; 2012; 2015; Berntzon et al., 2013; Popova et al., 2018a; 2018b; Koksharova et al., 2020a; 2020b; 2021). В пионерской работе (Downing et al., 2011) с применением стабильного изотопа азота ^{15}N и жидкостной хроматографии и масс спектрометрии было обнаружено, что BMAA синтезируется в клетках одноклеточных недиазотрофных цианобактерий *Synechocystis* J341 и *Microcystis* PCC7806 при азотном голодании и быстро исчезает из клеток при добавлении к ним связанного азота в форме аммония или нитрата. Оказалось, что реакция на появление в среде аммония происходит быстрее, чем при внесении нитрата. Это позволило авторам предположить, что именно включение аммония в состав среды является непосредственной причиной наблюдаемого снижения содержания BMAA в клетках цианобактерий. Эти данные указывали на физиологическую роль BMAA, связанную с адаптацией к условиям азотного голодания. В следующей работе (Downing et al., 2012) было обнаружено, что добавление к клеткам экзогенного BMAA в концентрации 4,2 мкМоля и выше вызывало хлороз и снижение скорости роста *Synechocystis* sp. при интенсивности освещения 16 мкмоль $м^{-2}$ $с^{-1}$. Если испытывающие хлороз культуры перемещали в условия с более низкой интенсивностью света (10 мкмоль $м^{-2}$ $с^{-1}$), то через неделю они возобновляли рост и восстанавливали пигментацию (Downing et al., 2012). Эти данные указывают на обратимое ингибирование фотосинтеза путем нарушения функции или целостности фотосистем. В следующей небольшой работе Downing et al., (2015) с применением биофизических методов исследования флуоресценции хлорофилла изучалось действие экзогенных микроцистина и BMAA на процесс фотосинтеза в клетках *Synechocystis* sp. PCC 6803. Анализируя параметры переменной флуоресценции хлорофилла, авторы исследования предположили, что добавление BMAA к клеткам цианобактерии уменьшает поток электронов через ФС2, ингибируя электронный транспорт внутри пула пластохинонов, а действие микроцистина ингибирует выделение кислорода. Опираясь на эти результаты, авторы предложили гипотетическую модель возможных физиологических ролей

микроцистина и BMAA в предотвращении повреждений, вызванных высокой интенсивностью света, как при отсутствии, так и при наличии достаточного количества азота, учитывая, что микроцистины синтезируются в природе в клетках цианобактерий в условиях избытка азота, а BMAA в условиях его дефицита (Scott et al., 2014). Согласно этой модели, при избытке азота микроцистины синтезируются и обеспечивают защиту от внезапного возникновения окислительного стресса, вызванного высокой интенсивностью света, подавляя излишнее выделение кислорода. В условиях дефицита азота синтезируется BMAA, который защищает клетку от окислительного стресса в отсутствие микроцистинов, вероятно, ингибируя фотосинтез на уровне пластохинонов. Авторы отмечают, что это может происходить, например, при высыхании клеток, когда отсутствие достаточного количества азота препятствует поддержанию клеточных компонентов, повреждаемых активными формами кислорода (Downing et al., 2015). В ходе высыхания клетки не способны синтезировать новые белки, а ферменты, участвующие в азотном метаболизме, могут разрушаться. Однако, гипотетические теории нуждаются в тщательной экспериментальной проверке.

В работе (Berntzon et al., 2013) впервые было продемонстрировано угнетение активности фермента азотфиксации нитрогеназы при внесении экзогенного BMAA к клеткам азотфиксирующей нитчатой цианобактерии *Nostoc* (*Anabaena*) sp. PCC 7120. В наших работах (Popova et al., 2018a; 2018b) мы подтвердили ингибирующий эффект BMAA на нитрогеназную активность этой цианобактерии и более детально исследовали биологическое действие BMAA на клетки *Nostoc* sp. PCC 7120 с применением методов флуоресцентной микроскопии и транскриптомики. Сначала был обнаружен необычный регуляторный эффект BMAA на процесс формирования специализированных клеток (гетероцист), необходимых для осуществления процесса фиксации атмосферного азота в клетках этой цианобактерии (Popova et al., 2018a). Оказалось, что добавление микромолярных количеств аминокислоты к голодающим по азоту клеткам цианобактерии приводило к отмене дифференцировки гетероцист вследствие блокировки экспрессии специфичных для этого процесса генов (Popova et al., 2018b). Последующие протеомные исследования позволили выявить, что BMAA (20 мкМоль) оказывает плейотропное действие на основные физиологические процессы в клетках *Nostoc* sp. PCC 7120 (Koksharova et al., 2020a; 2020b; 2021). Среди них трансляция белков, азотфиксация, фотосинтез, репарация ДНК, транспорт железа и бикарбоната, гликолиз, аминокислотный метаболизм (Рис. 2). В качестве первичных мишеней для действия BMAA, вероятно, можно рассматривать различные биосинтетические процессы, в регуляцию которых вовлечены 2-оксоглутарат, глутамат, регуляторные белки PII и NtcA (Koksharova et al., 2021).

Мы сфокусируем наше внимание на изменениях, происходящих под действием BMAA в экспрессии белков, участвующих в световых и в темновых реакциях фотосинтеза. Отметим, что эта аминокислота сильно влияет на состав белковых комплексов обеих фотосистем и комплексов переноса электронов между фотосистемами в клетках *Nostoc* sp. PCC 7120, инкубируемых в трех различных условиях роста (Koksharova et al., 2020a; 2020b; 2021). Оказалось, что действие BMAA на фотосистемы цианобактерии отличалось в зависимости от обеспечения её клеток азотом (Koksharova and Safronov, 2022a).

При азотном голодании, когда нити цианобактерий, состоящие только из вегетативных клеток, отмывали от богатой азотом среды и переносили на 48 часов в среду роста без азота, наиболее уязвимой оказывается фотосистема 1. При этом заметно снижалась представленность ключевых компонентов фотосистемы 1 (ФС1) (белков PsaA, PsaB, PsaF), пластоцианина (PetE) и некоторых белков пигментных комплексов (Таблица 1). Экспрессия белка PsaA

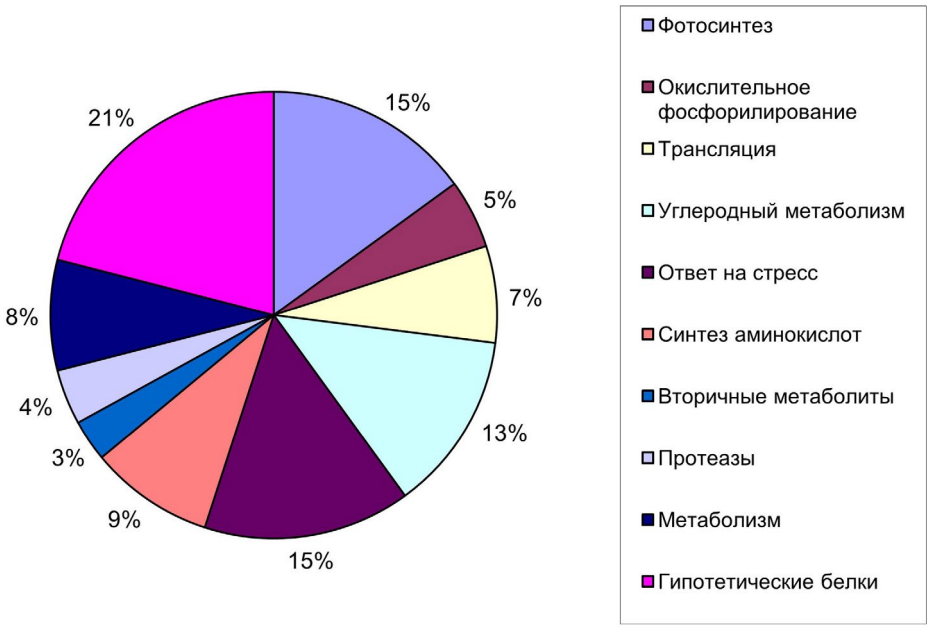


Рис.2. Функциональные категории белков, экспрессия которых меняется в протеоме цианобактерии *Nostoc* sp. PCC 7120 при действии BMAA. Диаграмма выполнена по результатам, полученным в работе (Koksharova et al., 2021).

Таблица 1. Фитотоксичное действие BMAA на содержание белков в протеоме цианобактерии *Nostoc* sp. PCC 7120*

Белковый комплекс/процесс	Условия выращивания клеток		
	Среда без азота Диазотрофный рост	Среда с азотом (нитрат натрия)	Голодание по азоту (48 часов без азота)
ФС1			
Субъединица IV psaE, *asr4319*	65%	69%	
Субъединица XI psaL, *all0107*	69%		
PsaA P700 хлорофилл a апопротеин A1, *alr5154*			38%
PsaB P700 хлорофилл a апопротеин A2, *alr5155*			26%
PsaF Субъединица III, *all0109*			61%
ФС2			
Белок D1, psbA1 *alr4866*, *alr4592*, *alr3727*, *alr3742*, *all3572*	56%		
CP47, psbB *all0138*	75%	82%	
psbD Белок D2 *alr4548*, *alr4290*	62%		
PsbO белок-стабилизатор марганцового кластера, *all3854*	81%		
белок 13 кДа, PsbW *all0801*			**
Цитрохром c-550 psbV, *all0259*		71%	
PetB железо-серный белок (Rieske iron-sulfur protein), в составе комплекса цитохрома *b6f*, *alr3421*	62%		
PetC цитохром b6f комплекс, *all2453*	43%		175%
CytA Цитохром c6, *alr4251*	169%		
Pet E Пластоцианин, *all0258*			58%
PetH Ферредоксин-НАДФ+ редуктаза, *all4121*	72%		
НАДН хинон оксидоредуктаза Субъединица H ndhH, *alr3355*	60%		
Ферменты синтеза порфиринов и хлорофилла			
HemB, [EC:4.2.1.24] Порфобилиноген синтаза hemB, *alr4380*			51%
HemC, [EC:2.5.1.61], Порфобилиноген дезаминаза, *alr1878*	47%		
HemH, [EC:4.99.1.1], Феррохелатаза, *alr3751*	53%		
Протохлорофиллид-оксидоредуктаза [EC:1.3.1.33], *all1743*	61%		
Магний-протопорфирин IX монометиловый эфир [окислительная] циклаза [EC:1.14.13.81], *alr3300*	52%		

Примечание: *Показано относительное содержание фотосинтетических белков в протеомах обработанных BMAA (20 мкМолей) клеток по сравнению с протеомами необработанных (контрольных) клеток цианобактерии. Содержание белка в контроле принято за 100 %. Таблица выполнена по результатам, полученным в работах (Koksharova et al., 2020a; 2020b; 2021)

** Белок PsbW идентифицируется до детектируемых значений только в обработанных BMAA клетках *Nostoc* sp. PCC 7120 (Koksharova et al., 2021).

(фотосистема 1 P700 хлорофилл a апопротеин A1) была снижена почти в три раза, а экспрессия белка PsaB (фотосистема 1 P700 хлорофилл a апопротеин A2) была снижена почти в четыре раза. Эти два белка кодируются двумя соседними генами, которые коэкспрессируются, *alr5154* и *alr5155*. В то же время экспрессия одного белка фотосистемы 2 (ФС2) (белок 13 кДа, PsbW) и белка PetC (железосерная субъединица комплекса цитохрома b6f) была повышена (Таблица 1). Вероятно, это является проявлением возможного компенсаторного механизма в клетках цианобактерии при действии BMAA. Так, в случае растения *Arabidopsis* было показано (García-Cerdán et al., 2010), что белок PsbW необходим для формирования стабильной структуры белкового комплекса ФС2. В отсутствие белка PsbW в клетках растений, мутантных по этому гену, не могут быть сформированы упорядоченные ряды полукристаллических макродоменов суперкомплексов ФС2 и её светособирающего комплекса (PSII-LHCII). Это, в свою очередь, приводит к снижению эффективности передачи энергии между субъединицами ФС2 и к замедленной реакции этой фотосистемы в ответ на световой стресс (García-Cerdán et al., 2010). Можно предположить, что увеличение количества белка PsbW до детектируемого уровня в протеоме клеток *Nostoc* sp. PCC 7120, обработанных BMAA, служит стабилизации белковых комплексов ФС2. Вероятно, это может быть одной из причин, почему не было обнаружено существенного снижения экспрессии белков этой фотосистемы в протеоме цианобактерии в этих стрессовых условиях роста (Таблица 1). Обсуждая результаты протеомного анализа действия BMAA при голодании *Nostoc* по азоту, следует отметить не только значительные изменения в количестве белков, представляющих ключевые компоненты фотосинтетического аппарата, но и снижение уровня регуляторного белка PII (GlnB, *all2319*) (Koksharova et al., 2020a), функционирование которого определяет клеточный баланс между азотным и углеродным метаболизмом цианобактерии (Forchhammer and Selim, 2019). В этой связи можно отметить, что регуляторный белок PII ковалентно модифицируется в условиях несбалансированного фотосинтетического переноса электронов у цианобактерии *Synechococcus* sp. PCC 7942, когда электронный транспорт ФС2 преобладает над электронным транспортом ФС1 (Tsinoremas et al., 1991). В этой работе авторы высказали предположение о том, что фотосинтетическая цепь переноса электронов может регулировать путь ассимиляции азота в клетках цианобактерий посредством посттрансляционной модификации белка PII. Как мы видим по результатам протеомного исследования (Koksharova et al., 2020a), в условиях азотного голодания наиболее уязвима для BMAA именно фотосистема 1 (Таблица 1).

В условиях диазотрофного роста, при котором цианобактерия *Nostoc* sp. PCC 7120 растет в безазотистой среде, и фиксация атмосферного азота происходит в её специализированных клетках – гетероцистах, добавление микромолярной концентрации BMAA к клеткам цианобактерии изменяет количество девятнадцати фотосинтетических белков, и шести белков, функционирующих в окислительном фосфорилировании (Koksharova et al., 2021). В присутствии BMAA наблюдалось резкое снижение экспрессии белков, функционирующих в составе обеих фотосистем – комплексов ФС1 или ФС2, а также в комплексе цитохромов b6f и в антенных пигментных комплексах (Таблица 1). Добавление BMAA к клеткам цианобактерии приводит к снижению экспрессии двух белков реакционного центра ФС1 (субъединиц IV и XI), четырёх ключевых белков ФС2 (D1, D2, CP47, PsbO) и пяти белковых компонентов фикобилисомных светособирающих антенн ФС2. Заметно снижается представленность в протеоме белков-ферментов (HemC, HemH, протохлорофиллид-оксидоредуктаза, магний-протопорфирин IX монометиловый эфир (окислительная) циклаза), участвующих в синтезе порфиринов и хлорофилла. Таким образом, фитотоксичность BMAA особенно ярко проявляется в условиях диазотрофного роста цианобактерии.

В клетках *Nostoc*, растущих на богатой азотом среде, фотосинтетические белки подвергались лишь незначительному воздействию BMAA. В клетках, выращенных в среде с избытком азота, примерно до 70%-80% снижалась экспрессия пяти белков, участвующих в фотосинтезе. Среди них были обнаружены цитохром c-550 (PsbV, *all0259*), субъединица IV ФС1 (PsaE, *asr4319*), белок ФС2 CP47 (PsbB, *all0138*), компонент ядра фикобилисомы apcF (*all2327*) и бета-субъединица АТФ-синтазы F0F1 (*all5039*). При этом экспрессия двух белков (CpcB и CpcG4) светособирающих комплексов повышалась в присутствии BMAA. (Koksharova et al., 2020b).

Полученные результаты свидетельствуют о существенном влиянии BMAA в условиях нехватки азота на белковые комплексы цианобактерий, функционирующие в световых реакциях фотосинтеза. Кроме того, BMAA также снижает содержание белков, участвующих в темновых реакциях фотосинтеза, а именно в фиксации CO_2 и в других процессах углеродного метаболизма (Koksharova et al., 2020a). Это обусловливает важное функциональное значение BMAA в жизни цианобактерий, что согласуется с гипотезой, согласно которой эта аминокислота может быть использована микроводорослями в различных экосистемах как инструмент аллелопатии для контроля численности цианобактериальных популяций в течение периода жесткой конкуренции за источники азота и другие ресурсы (Koksharova et al., 2020a; 2021).

Диатомовые водоросли, как и цианобактерии, продуцируют BMAA (Jiang et al., 2014). Индукцию синтеза этой аминокислоты диатомовыми водорослями вызывают дефицит железа (Zheng et al., 2025), биотические стрессы (Kim et al., 2026) и понижение температуры инкубации водорослей (Zheng et al., 2026). Было показано, что добавление экзогенного BMAA к клеткам диатомовых водорослей *Phaeodactylum tricornutum* и *Thalassiosira weissflogii* приводит к выделению аммония из клеток в окру-

жающую среду (Lage et al., 2016), что указывает на уязвимость азотного метаболизма при действии BMAA. Эта аминокислота, добавленная к клеткам диатомовой водоросли *Phaeodactylum tricornutum,* вызывает окислительный стресс, влияет на фотосинтез и метаболизм азота (Kim et al., 2022). Отметим, что BMAA также подавляет экспрессию гена *rbcL*, кодирующего большую субъединицу Рубиско у диатомовых водорослей *Phaeodactylum tricornutum* (Kim et al., 2022). Воздействие BMAA приводило к подавлению роста и морской микроводоросли *Isochrysis galbana,* к снижению синтеза хлорофилла в ее клетках, снижению активности ФС2, снижению транскрипции генов, ответственных за белки обеих фотосистем, фермента глутаминсинтетазы и транспортеров нитрата, а также к ингибированию клеточного цикла этой водоросли (Li et al., 2023). Использование методов транскриптомики в этом исследовании позволило выявить изменения в траскрипции генов, кодирующих различные белки, связанные с функционированием кислород-выделяющего комплекса ФС2, ядра комплекса и субъединицы IV ФС1, комплекса цитохромов b6f, ферредоксина и субъединицы АТФазы F-типа под влиянием BMAA, что снижало квантовый выход ФС2 и скорость переноса электронов. Полученные транскриптомные данные для диатомовых водорослей хорошо согласуются с данными протеомики, полученными ранее для цианобактерии *Nostoc* sp. PCC7120 (Koksharova et al., 2020a; 2021). В совокупности все эти исследования демонстрируют, что BMAA обладает фитотоксичностью, ингибируя рост разных групп микроводорослей, негативно влияя на активность азотного метаболизма, фотосинтез и окислительный стресс.

3. Фитотоксичность мета-тирозина

Аналог ароматических аминокислот тирозина и фенилаланина – Мета-тирозин (m-Tyr) (Рисунок 1) – обладает высокой, но селективной фитотоксичностью (Zer et al., 2020; 2025). Его токсичность была выявлена для растений (Bertin et al., 2007; 2009; Matsumoto, 2011; Andrzejczak et al., 2018; Staszek and Gniazdowska, 2020; Zer et al., 2020), цианобактерий *Synechocystis* sp. PCC 6803 и *M. aeruginosa*, но не обнаружена, например, для гетеротрофных бактерий *Escherichia coli* и *Bacillus subtilis* (Zer et al., 2025). Некоторые наземные растения, такие как *Euphorbia myrsinites* (Молочай миртолистный) или *Festuca rubra* (Овсяница красная), могут вырабатывать высокие уровни m-Tyr в тканях своих корней и выделять его, подавляя вблизи себя жизнедеятельность других растений (Bertin et al., 2007; Zer et al., 2020). Помимо растений, m-Tyr также может вырабатываться ферментативно фенилаланиновой мета-гидроксилазой в клетках бактерии *Streptomyces coeruleorubidus* и, предположительно, другими бактериями, которые могут содержать этот фермент (Gruschow et al., 2020). Отметим, что *Streptomyces coeruleorubidus* – это вид бактерий из рода Streptomyces, который был выделен из морских отложений (Kumar et al., 2012).

Клетки цианобактерий высоко чувствительны к действию микромолярных концентраций m-Tyr (Zer et al., 2025). В цианобактериальных клетках, обработанных m-Tyr, изменяется гомеостаз аминокислот. Протеомные исследования позволили выяснить, что фенилаланил-тРНК-синтетаза (PheRS) ошибочно включает m-Tyr в белки одноклеточной цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803. Такие замены, вероятно, приводят к агрегации белков и нарушению их функционирования. Особенно это влияние проявляется в отношении рибосомальных белков (27%) и белков, участвующих в процессе фотосинтеза (21.9%) (Рис. 3).

Клетки *Synechocystis* PCC 6803 после обработки m-Tyr демонстрируют изменения в фотосинтетической активности и в процессе синтеза белков. Эти изменения коррелируют с задержкой роста цианобактерии и с морфологическими изменениями клеток при добавлении к ним микромолярных концентраций m-Tyr. При более высоких концентрациях аминокислоты наблюдается повышенная гибель клеток *Synechocystis* PCC 6803. Вероятно, цианобактерии не могут метаболизировать m-Tyr, превращая его в нетоксичный метаболит (Zer et al., 2025). Функциональная роль этой небелковой аминокислоты в клетках цианобактерий и микроводорослей изучена пока в меньшей степени, чем роль BMAA. Тем не менее, проведенные протеомные исследова-

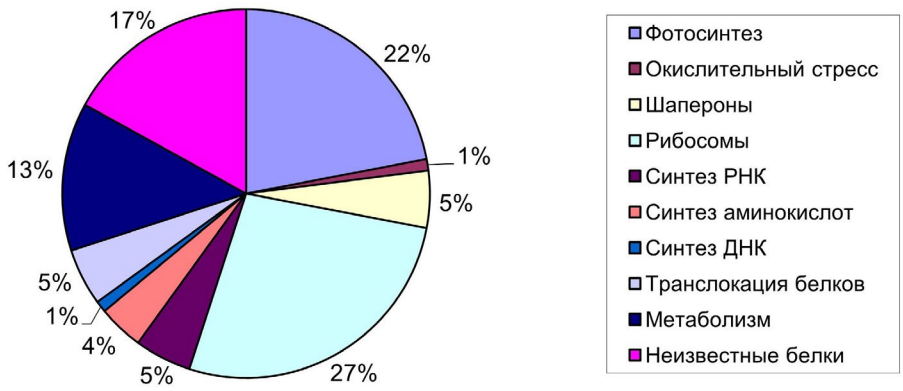


Рис.3. Функциональные категории белков, экспрессия которых меняется в протеоме цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803 при действии m-Tyr. Диаграмма выполнена по результатам, полученным в работе (Zer et al., 2025).

ния биологического действия каждой из аминокислот на клетки цианобактерий выявили аналогии. Обе аминокислоты изменяют экспрессию белков, участвующих в фотосинтезе, рибосомальных белков, ферментов метаболизма аминокислот, белков окислительного стресса, белков шаперонов, белков клеточного деления и большого количества белков с неизвестными пока функциями. Более глубокое понимание механизмов действия m-Tyr и BMAA на фотосинтез и другие метаболические процессы в клетках цианобактерий и микроводорослей требует дополнительных исследований с применением молекулярно-генетических, биохимических и биофизических методов.

4. Выводы

Небелковые аминокислоты мета-тирозин и BMAA обладают выраженной фитотоксичностью в отношении клеток цианобактерий и микроводорослей. Обе аминокислоты меняют протеомы цианобактерий, изменяя количества белков фотосинтеза, воздействуя на процессы углеродного метаболизма, трансляции. Процесс изучения конкретных механизмов действия этих молекул на различные этапы фотосинтеза находится пока в самом начале. Многое еще предстоит сделать с применением различных экспериментальных подходов. Идентификация мишеней действия фитотоксичных небелковых аминокислот в клетках цианобактерий и водорослей востребована как для фундаментальных исследований первичных процессов фотосинтеза, так, возможно, и для решения практических задач в будущем. Использование в дальнейших исследованиях различных биофизических методов (спектрофотометрических, метода ЭПР и других), а также методов мутагенеза, транскриптомики и протеомики будет способствовать более глубокому пониманию механизмов аллелопатического действия небелковых аминокислот на первичные метаболические процессы в клетках микроводорослей.

Благодарности

На написание данного обзора авторов вдохновила работа VIII Всероссийской научной конференции с международным участием «Водоросли: проблемы таксономии и экологии, использование в мониторинге и биотехнологии» 7–11 сентября 2026 г., Иркутск, п. Листвянка. Авторы выражают благодарность профессору Ю.А. Кокшарову за обсуждение текста статьи и полезные вопросы и комментарии. Благодарим анонимных рецензентов за ценные замечания, которые позволили авторам дополнить и доработать текст. Исследование выполнено в рамках государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Список литературы

Andrzejczak O., Krasuska U., Olechowicz J. et al. 2018. Destabilization of ROS metabolism in tomato roots as a phytotoxic effect of meta-tyrosine. Plant Physiology and Biochemistry123: 369–377. DOI: 10.1016/j.plaphy.2017.12.024

Balfagón D., Gómez-Cadenas A., Rambla J.L. et al. 2022. γ-Aminobutyric acid plays a key role in plant acclimation to a combination of high light and heat stress. Plant Physiology 188: 2026–2038. DOI: 10.1093/plphys/kiac010

Berntzon L., Erasmie S., Celepli N. et al. 2013. BMAA inhibits nitrogen fixation in the cyanobacterium *Nostoc* sp. PCC 7120. Marine Drugs 11: 3091–3108. DOI: 10.3390/md11083091

Bertin C., Weston L.A., Huang T. et al. 2007. Grass roots chemistry: meta-tyrosine, an herbicidal nonprotein amino acid. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 104(43): 16964–16969. DOI: 10.1073/pnas.0707198104

Bertin C., Harmon R., Akaogi M. et al. 2009. Assessment of the phytotoxic potential of m-tyrosine in laboratory soil bioassays. Journal of Chemical Ecology 35(11): 1288–1294. DOI: 10.1007/s10886-009-9707-4

Brenner E.D., Martinez-Barboza N., Clark A.P. et al. 2000. Arabidopsis mutants resistant to S(+)-beta-methyl-alpha, beta-diaminopropionic acid, a cycad-derived glutamate receptor agonist. Plant Physiology 124: 1615–1624. DOI: 10.1104/pp.124.4.1615

Brenner E.D., Feinberg P., Runko S. et al. 2009. A mutation in the Proteosomal Regulatory Particle AAA-ATPase-3 in Arabidopsis impairs the light-specific hypocotyl elongation response elicited by a glutamate receptor agonist, BMAA. Plant Molecular Biology 70(5): 523–533. DOI: 10.1007/s11103-009-9489-7

Casagrande D.J., Given P.H. 1980. Geochemistry of amino acids in some Florida peat accumulation-II. Amino acid distributions. Geochimica et Cosmochimica Acta 44:1493–1507. DOI: 10.1016/0016-7037(80)90114-3

Cox P.A., Banack S.A., Murch S.J. et al. 2005. Diverse taxa of cyanobacteria produce beta-N-methylamino-L-alanine, a neurotoxic amino acid. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 102(14): 5074–5078. DOI: 10.1073/pnas.0501526102

Downing S., Banack S.A., Metcalf J.S. et al. 2011. Nitrogen starvation of cyanobacteria results in the production of β-N-methylamino-L-alanine. Toxicon 58(2):187–194. DOI: 10.1016/j.toxicon.2011.05.017

Downing S., Van de Venter M., Downing T.G. 2012. The effect of exogenous β-N-Methylamino-L-alanine on the growth of *Synechocystis* PCC6803. Microbial Ecology 63(1): 149–156. DOI: 10.1007/s00248-011-9958-9

Downing T.G., Phelan R.R., Downing S. 2015. A potential physiological role for cyanotoxins in cyanobacteria of arid environments. Journal of Arid Environments 112: 147–151. DOI: 10.1016/j.jaridenv.2014.02.005

Esterhuizen-Londt M., Pflugmacher S., Downing T.G. 2011. The effect of β-N-methylamino-L-alanine (BMAA) on oxidative stress response enzymes of the macrophyte *Ceratophyllum demersum*. Toxicon 57(5): 803–810. DOI: 10.1016/j.toxicon.2011.02.015

Forchhammer K., Selim K.A. 2019. Carbon/nitrogen homeostasis control in cyanobacteria. FEMS Microbiology Reviews 44:33–53. DOI: 10.1093/femsre/fuz025

García-Cerdán J.G., Kovács L., Tóth T. et al. 2010. The PsbW protein stabilizes the supramolecular organization of II in higher plants. Plant Journal 65:368–381. DOI: 10.1111/j.1365-313x.2010.04429.x

Gerić M., Gajski G., Domijan A.M. et al. 2019. Genotoxic effects of neurotoxin β-N-methylamino-l-alanine in human peripheral blood cells. Chemosphere 214: 623–632. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2018.09.155

Goettig P., Koch N.G., Budisa N. 2023. Non-canonical amino acids in analyses of protease structure and function. International Journal of Molecular Sciences 24(18):14035. DOI: 10.3390/ijms241814035

Gruschow S., Sadler J., Sharrat P. et al. 2020. Phenylalanine meta-hydroxylase: a single residue mediates mechanistic control of aromatic amino acid hydroxylation. ChemBioChem 21(3): 417–422. DOI: 10.1002/cbic.201900320

Huang T., Jander G., de Vos M. 2011. Non-protein amino acids in plant defense against insect herbivores: Representative cases and opportunities for further functional analysis. Phytochemistry 72(13): 1531–1537. DOI: 10.1016/j.phytochem.2011.03.019

Jander G., Kolukisaoglu U., Stahl M. et al. 2020. Editorial: Physiological aspects of non-proteinogenic amino acids in plants. Frontiers in Plant Science 11:519464. DOI: 10.3389/fpls.2020.519464

Jiang L., Eriksson J., Lage S. et al. 2014. Diatoms: A novel source for the neurotoxin BMAA in aquatic environments. PLOS ONE 9(1): e84578. DOI: 10.1371/journal.pone.0084578

Kim S.-Y., Rasmussen U., Rydberg S. 2022. Effect and function of β-N-methylamino- L-alanine in the diatom *Phaeodactylum tricornutum*. The Science of the Total Environment 830: 154778. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2022.154778

Kim S.-Y., Son J., Rydberg S. 2026. Effect of biotic stress on diatom neurotoxins: Predation and competition. Journal of Sea Research 211: 102695. DOI: 10.1016/j.seares.2026.102695

Koksharova O.A., Butenko I.O., Pobeguts O.V. et al. 2020. The first proteomic study of *Nostoc* sp. PCC 7120 exposed to cyanotoxin BMAA under nitrogen starvation. Toxins (Basel) 12(5): 310. DOI: 10.3390/toxins12050310

Koksharova O.A., Butenko I.O., Pobeguts O.V. et al. 2020. Proteomic insights into starvation of nitrogen-replete cells of *Nostoc* sp. PCC7120 under BMAA treatment. Toxins (Basel) 12(6): 372. DOI: 10.3390/toxins12060372

Koksharova O.A., Butenko I.O., Pobeguts O.V. et al. 2021. β-N-Methylamino-L-Alanine (BMAA) causes severe stress in *Nostoc* sp. PCC 7120 sells under diazotrophic conditions: a proteomic study. Toxins (Basel) 13(5): 325. DOI: 10.3390/toxins13050325

Koksharova O.A., Safronov N.A. 2022. The effects of secondary bacterial metabolites on photosynthesisin microalgae cells. Biophysical Reviews 14:843–856. DOI: 10.1007/s12551-022-00981-3

Koksharova O.A., Safronov N.A. 2022. Non-proteinogenic amino acid β-N-methylamino-L-alanine (BMAA): bioactivity and ecological significance. Toxins (Basel) 14(8): 539. DOI: 10.3390/toxins14080539

Kumar K.S., Haritha R., Swathi A. et al. 2012. Taxonomy and antimicrobial activity of *Streptomyces coeruleorubidus* sp. isolated from marine sediment. Research Journal of Microbiology 7: 171–181. URL: https://scialert.net/abstract/?doi=jm.2012.171.181

Lage S., Costa P.R., Moita T. et al. 2014. BMAA in shellfish from two Portuguese transitional water bodies suggests the marine dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* as a potential BMAA source. Aquatic toxicology 152: 131–138. DOI: 10.1016/j.aquatox.2014.03.029

Lage S., Strom L., Godhe A. et al. 2016. The effect of exogenous beta-N- methylamino-L-alanine (BMAA) on the diatoms *Phaeodactylum tricornutum* and *Thalassiosira weissflogii*. Harmful Algae 58: 85–92. DOI: 10.1016/j.hal.2016.08.005

Li A., Liu J., Qiu J. et al. 2023. Cell cycle of microalga *Isochrysis galbana* arrested by neurotoxin β-N-methylamino-l-alanine and corresponding molecular mechanisms. Science of The Total Environment 874: 162445. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2023.162445

Li L., Dou N., Zhang H. et al. 2021.The versatile GABA in plants. Plant signaling and behavior 16(3):1862565. DOI: 10.1080/15592324.2020.1862565

Lobner D., Piana P.M.T., Salous A.K. et al. 2007. β-N-Methylamino-l-alanine enhances neurotoxicity through multiple mechanisms. Neurobiology of disease 25:360–366. DOI: 10.1016/j.nbd.2006.10.002

Marler T.E., Snyder L.R., Shaw C.A. 2010. *Cycas micronesica* (Cycadales) plants devoid of endophytic cyanobacteria increase in β-methylamino-l-alanine. Toxicon 56(4): 563–568. DOI: 10.1016/j.toxicon.2010.05.015

Matsumoto H. 2011. The mechanisms of phytotoxic action and selectivity of non-protein aromatic amino acids L-DOPA and m-tyrosine. Journal of Pesticide Science 36(1): 1–8. DOI: 10.1584/jpestics.R10-15

Nunn P.B. 2017. 50 years of research on α-amino-β-methylaminopropionic acid (β-methylaminoalanine). Phytochemistry 144: 271–281. DOI: 10.1016/j.phytochem.2017.10.002

Nunn P.B., Codd G.A. 2019. Environmental distribution of the neurotoxin l-BMAA in Paenibacillus species. Toxicology research 8(6):781–783. DOI: 10.1039/c9tx00203k

Popova A., Rasmussen U., Semashko T. et al. 2018. Stress effects of cyanotoxin β-methylamino-L-alanine (BMAA) on cyanobacterial heterocyst formation and functionality. Environmental microbiology reports 10: 369–377. DOI: 10.1111/1758-2229.12647

Popova A., Semashko T., Kostina N. et al. 2018. The cyanotoxin BMAA induces heterocyst specific gene expression in *Anabaena* sp. PCC 7120 under repressive conditions. Toxins (Basel) 10(11): 478. DOI: 10.3390/toxins10110478

Scott L.L., Downing S., Phelan R.R. et al. 2014. Environmental modulation of microcystin and β-N-methylamino-L-alanine as a function of nitrogen availability. Toxicon 87:1–5. DOI: 10.1016/j.toxicon.2014.05.001

Shenker M., Fan T.W.M., Crowley D.E. 2001. Phytosiderophores influence on cadmium mobilization and uptake by wheat and barley plants. Journal of environmental quality 30: 2091–2098. DOI: 10.2134/jeq2001.2091

Staszek P., Weston L.A., Ciacka K. et al. 2017. l-Canavanine: How does a simple non-protein amino acid inhibit cellular function in a diverse living system? Phytochemistry reviews: proceedings of the Phytochemical Society of Europe 16: 1269–1282. DOI: 10.1007/s11101-017-9536-y

Staszek P., Gniazdowska A. 2020. Peroxynitrite induced signaling pathways in plant response to non-proteinogenic amino acids. Planta 252(1): 5. DOI: 10.1007/s00425-020-03411-4

Tarakhovskaya E., Gulk E., Zamyatkina E. 2025. Non-proteinogenic amino acids from marine macroalgae: diversity, functional roles, and biological activity. Phycologia 64(5): 366–388. DOI: 10.1080/00318884.2025.2545164

Tsinoremas N.F., Castets A.M., Harrison M.A. et al. 1991. Photosynthetic electron transport controls nitrogen assimilation in cyanobacteria by means of posttranslational modification of the glnB gene product. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 88(11): 4565–4569. DOI: 10.1073/pnas.88.11.4565

Violi J.P., Facey J.A., Mitrovic S.M. et al. 2019. Production of β-methylamino-L-alanine (BMAA) and its isomers by freshwater diatoms. Toxins (Basel) 11 (9): 512. DOI: 10.3390/toxins11090512

Vranova V., Rejsek K., Skene K.R. et al. 2011. Non-protein amino acids: plant, soil and ecosystem interactions. Plant Soil

342:31–48. DOI: 10.1007/s11104-010-0673-y

Walsh C.T., O'Brien R.V., Khosla C. 2013. Nonproteinogenic amino acid building blocks for nonribosomal peptide and hybrid polyketide scaffolds. Angewandte Chemie (International ed. in English) 52(28):7098–7124. DOI: 10.1002/anie.201208344

Zheng X., Wu S., Qiu J. et al. 2025. Induction of a neurotoxin in diatoms by iron limitation via cysteine synthase. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 122(24): e2424843122. DOI: 10.1073/pnas.2424843122

Zheng X., Li A., Qiu J. et al. 2026. Physiological and growth responses of marine diatoms under different culture temperature. Water biology and security 5(4): 100533. DOI: 10.1016/j.watbs.2025.100533

Zer H., Mizrahi H., Malchenko N. et al. 2020. The Phytotoxicity of meta-tyrosine is associated with altered phenylalanine metabolism and misincorporation of this non-proteinogenic Phe-analog to the plant's proteome. Frontiers in Plant Science 11:140. DOI: 10.3389/fpls.2020.00140

Zer H., Matan R., Rasin D. et al. 2025. The toxic effects of meta-tyrosine are related to its misincorporation into the proteome and to altered metabolism in cyanobacteria. The FEBS Journal 292(20): 5439–5456. DOI: 10.1111/febs.70154

Original Article
LIMNOLOGY FRESHWATER BIOLOGY

The use of artificial intelligence technologies as an element of improving the methodology of environmental monitoring of the Black Sea

Egorkin A.A.[1,2]*, Andreeva N.A.[1]

[1] *Institute of natural and technical systems, 14 Gogol str., Sevastopol, 299011, Russia*
[2] *FGKVOU VPO «Black Sea Higher Naval Order of the Red Star School named after P.S. Nakhimov», Dybenko St. 1a, Sevastopol, 299028, Russia*

ABSTRACT. This article is devoted to the results of an experimental study, the purpose of which was to evaluate the possibility of using artificial intelligence technologies to improve the methodology of environmental monitoring of the Black Sea using the computer vision model (YOLO). The basis of environmental monitoring of water bodies is the determination of pollution, the saprobic index was chosen as its quantitative characteristic in this study. Saprobity is characterized by the degree of contamination of the reservoir with organic substances and their decomposition products. It is determined by the species composition of organisms (saprobionts) living in water and their number (frequency of occurrence). Microalgae of periphyton, which serve as indicators for the presence of organic substances, were selected as saprobionts. The composition and quantity of microalgae involved in the microfouling process were determined using the "fouling glasses" method by installing glasses in the coastal water area under study. The identification and calculation of the frequency of occurrence of microalgae present at a certain point in time in the water area was carried out by microscopy of microfouling samples. A certain composition of microalgae made it possible to calculate the saprobic index of the studied water body and draw a conclusion about its contamination. This method requires the participation of highly qualified specialists and the time required to process the microscopy results. In this regard, artificial intelligence technologies were used to accelerate the process as an element of improving the methodology of environmental monitoring of the Black Sea area. The use of the computer vision (YOLO) model made it possible to reduce the study time and assess the quality of the water body, which confirmed the effectiveness of the proposed technology in order to improve environmental monitoring of water bodies.

Keywords: bioindication, saprobity, microalgae, environmental monitoring, neural networks, computer vision

For citation: Egorkin A.A., Andreeva N.A. The use of artificial intelligence technologies as an element of improving the methodology of environmental monitoring of the Black Sea // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - P. 258-282. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-258

1. Introduction

Environmental monitoring of coastal waters is carried out in various ways, the choice of which is determined by the type of pollutants in the aquatic environment.

Pollution occurs when precipitation containing pollutants falls into a water body, effluents (discharges) of polluted waters from the territory of industrial facilities, and emergency situations when working with petroleum products.

One of the methods for determining water pollution is the bioindication method. The bioindication method as a monitoring improvement element involves assessing the quality of the natural environment based on the state of living organisms living in a given water body. The method is based on observations of the composition and abundance of indicator species - organisms that are the most sensitive to environmental changes. The bioindication method was chosen as the most sensitive to changes in the aquatic environment as a result of anthropogenic impact.

Algae as bioindicators react quickly and predictably to a wide range of pollutants. They serve as early indicators of environmental degradation. To characterize the level of water contamination with organic substances, the concept of reservoir saprobity is used (Egorkin and Andreeva, 2026).

*Corresponding author. E-mail address: egorkin1974@yandex.ru (A.A. Egorkin)

Received: June 22, 2026;
Accepted after revised: July 26, 2026;
Available online: August 28, 2026

© Author(s) 2026. This work is distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

Saprobity is the quantification of biological species living in water, called saprobionts. Microalgae of periphyton were used as saprobionts. They have a set of physiological and biochemical features that determine their ability to live in water with a certain level of organic matter (degree of contamination). Oligosaprobic, mesosaprobic, and polysaprobic (the most polluted) reservoirs are distinguished. Each type of saprobiont has a saprobic index.

The morphology of peripheral microalgae varies depending on the type of substrate and environmental conditions; they can form filamentous, mucous or film-like structures, as well as have a wide variety of forms, from unicellular to colonial and, depending on the species, have a different configuration, size and color. In general, periphyton is a community of microscopic organisms that colonize underwater surfaces in the aquatic environment. Microalgae of the periphyton take part in the processes of biological self-purification and formation of water quality. This is especially true in the coastal zone of the sea (Kovtun and Snigireva, 2012).

One of the methods currently used to determine the composition and quantity of microalgae is the "fouling glasses" method (Egorkin and Andreeva, 2026). The method is carried out by immersing specially selected glasses in the aquatic environment of the coastal zone of the Black Sea.

The identification and calculation of the frequency of occurrence of microalgae present at a certain point in time in the water area was carried out by microscopy of microfouling samples. This method requires highly qualified specialists and time to process the microscopy results. In this regard, to accelerate the process, artificial intelligence technologies were supposed to be used as an element of improving the methodology of environmental monitoring of the Black Sea area (Egorkin and Andreeva, 2026). The approbation of the proposed improvement method is presented in this article.

The purpose of the experimental study is to evaluate the possibility of using artificial intelligence technologies to improve the methodology of environmental monitoring of the water area using the computer vision model (YOLO).

Research objectives:

1. Analysis of the results of the application of the bioindication method and determination of saprobity.
2. Development of an algorithm for the use of artificial intelligence technologies - computer vision to determine the reliability.

2. Materials and methods

Bioindication and determination of saprobity were carried out using the method of "fouling glasses" installed in the coastal water area under study.

The following actions were performed:

- three glasses (size 25 x 75 mm) were fixed in a rubber tube with slots at a distance of 50 mm from each other;
- the first glass was immersed to a depth of 100 mm;
- the glasses were immersed and removed from the water on a monthly basis;
- periphyton organisms were examined in a suspension of scrapings;
- to study the morphology of cyanobacteria and microalgae of the periphyton in lifetime preparations, a Levenhuk 740T light microscope was used at magnification x 400;
- the cultures were photographed using a digital nozzle using the appropriate Levenhuk ToupView computer program and further image processing in Adobe Photoshop CS3 Extended;
- the taxonomic affiliation of microalgae was established using determinants (Guslyakov et al., 1992; Komárek and Anagnostidis, 1998; 2005).

After determining the species composition of microalgae, the saprobic index (S) was calculated, which was calculated using the formula:

$$S = \frac{\sum_{i=1}^{N}(s_i - h_i)}{\sum_{i=1}^{N} h_i}, \quad (1)$$

where:

N is the number of selected indicator types.;

h_i is the relative abundance of the i-th species (Table 1);

s_i is the individual saprobic index of the first type.

The saprobic index is the average value of the saprobity of all found species, taking into account their abundance.

The calculation of the number of specimens of an individual representative of the periphyton community of microalgae in a certain period (month), out of the total number, was carried out according to the formula:

$$B = \frac{N}{A}100, \quad (2)$$

where

B – percentage of occurrence, %;

N – the number of representatives of this taxon in all the studied visual fields;

A – the number of examined visual fields.

The saprobic index was specified with an accuracy of 0.01. The degree of contamination of the reservoir was determined by the value of the saprobic index: 0.5 – 1.5 – o – oligosaprobe zone (clean water), 1.51 – 2.5 – β – mesosaprobe zone (moderately polluted water), 2.51 – 3.5 – α – mesosaprobe zone (dirty water), 3.51 – 4.50 – p – polysaprobe zone (heavily polluted water) (Stupina, 1977).

Table 1. The ratio of relative abundance and frequency of organisms.

Occurrence	The number of copies of one type, % of the total number	h_i, scores
Very rarely	< 1	1
Rarely	2–3	2
Rather common	4–10	3
Often	10–20	5
Very often	20–40	7
En masse	40–100	9

The considered methodology for the saprobity determining and, accordingly, the assessment of the water body quality was carried out as a result of a long time period. To speed up the process in order to improve the methodology of environmental monitoring based on data from the application of the "fouling glasses" method, further experimental research using artificial intelligence technologies was conducted.

Modern artificial intelligence methods make it possible to automate image analysis, which is especially important when working with large amounts of microscopic data. In microscopic studies, this makes it possible to significantly speed up information processing and reduce the influence of the subjective factor characteristic of traditional visual analysis (Pawłowski et al., 2022).

There are three main directions in computer vision tasks: classification, detection and segmentation of images. Segmentation is a more detailed approach and includes highlighting the exact boundaries of an object, which makes it possible to more fully describe the shape of microalgae and their morphological features.

The YOLOv11 family model, which is widely used for image processing, was used as a tool (Spahn et al., 2022; Vasil'ev et al., 2025). Modern versions, such as YOLOv11-seg, have implemented the ability to solve detection and segmentation problems within a single architecture. The model provides information about the object's class, the probability of recognition, and its position in the image. During segmentation, it additionally generates an object mask.

The algorithm for improving the methodology included the following steps:

1. Compilation of a database and photo gallery of microalgae taxa.
2. Determination of the occurrence of various microalgae taxa based on the microbiology expert's work results.
3. Selection of microalgae taxa for the study.
4. Creation of training, test and validation samples for modeling.
5. Training, validation and testing of a neural network model based on the YOLO architecture.
6. Approbation of a model for assessing the ecological condition of the studied water body.

3. Results

3.1. Compilation of a database and photo gallery of microalgae taxa

The study of periphyton communities on «fouling glasses» in the coastal waters of Sevastopol was carried out for eight years. In the study of coastal waters with anthropogenic pollution, from 29 to 37 systematic units of microalgae were identified (Andreeva, 2015).

The main representatives of the periphyton in different years were diatoms of the genera *Navicula* Bory, *Nizschia* Hassall, *Pinnularia* Ehrenberg, *Cylindrotheca* Gottlob Ludwig Rabenhorst, and *Amphora* Ehrenberg ex Kützing. In some periods, *Achnanthes* de Saint-Vincent, *Bacillaria* J.F. Gmelin, *Licmophora* Carl Adolph Agardh, *Striatella* C. Agardh, *Thalassionema* A. Grunow ex C. Mereschkowsky, and some others actively developed, as well as representatives of oscillatory cyanobacteria, including those belonging to the genus *Spirulina (Arthrospira* Sitzenberger ex Gomont). Green (Chlorophyta) and Dinophyta algae were somewhat less common.

Figure 1 shows some representatives of the periphyton communities of the coastal water area of Sevastopol.

3.2. Determination of the occurrence of various microalgae taxa based on the microbiology expert's work results

The average data on the occurrence of different representatives of the periphyton for 2018 are shown in (Fig. 2). The data for 2018 was selected for analysis due to the fact that a complete set of data is available for this period without missing months.

3.3. Selection of microalgae taxa for the study

In order to determine the saprobic index and assess the quality of the studied reservoir based on the analysis of literary sources, individual saprobic indexes were determined for the microalgae presented in (Figs. 1 and 2) (Table 2) (Barinova, 1996; Stupina, 1977).

3.4. Creation of training, test and validation samples for modeling

Micrographs of selected microalgae taxa were specially prepared for use in modeling based on artificial intelligence (computer vision) technology.

The first step was to assign unique names to the images corresponding to the name of the taxon in order to eliminate possible errors during further processing. The "Taxon name" format was used as the naming template._1.jpeg ", where the part before the underscore character corresponds to the name of the microalgae genus, and the numeric index after it corresponds to the ordinal number of the image.

Next, the image array was divided into subsamples, which were used in the process of training the model. In accordance with the requirements of the YOLO family model, the data was divided into three parts: the training sample (train) – 70% of the images, the validation sample (validation) – 15% and the test sample (test) – 15%.

The separation was carried out separately for each type of microalgae, observing the specified ratio, which made it possible to maintain the balance of classes at all stages of training and ensure a correct assessment of the quality of the model. As a result, 3907 images were included in the training sample, 841 in the validation sample, and 860 in the test sample.

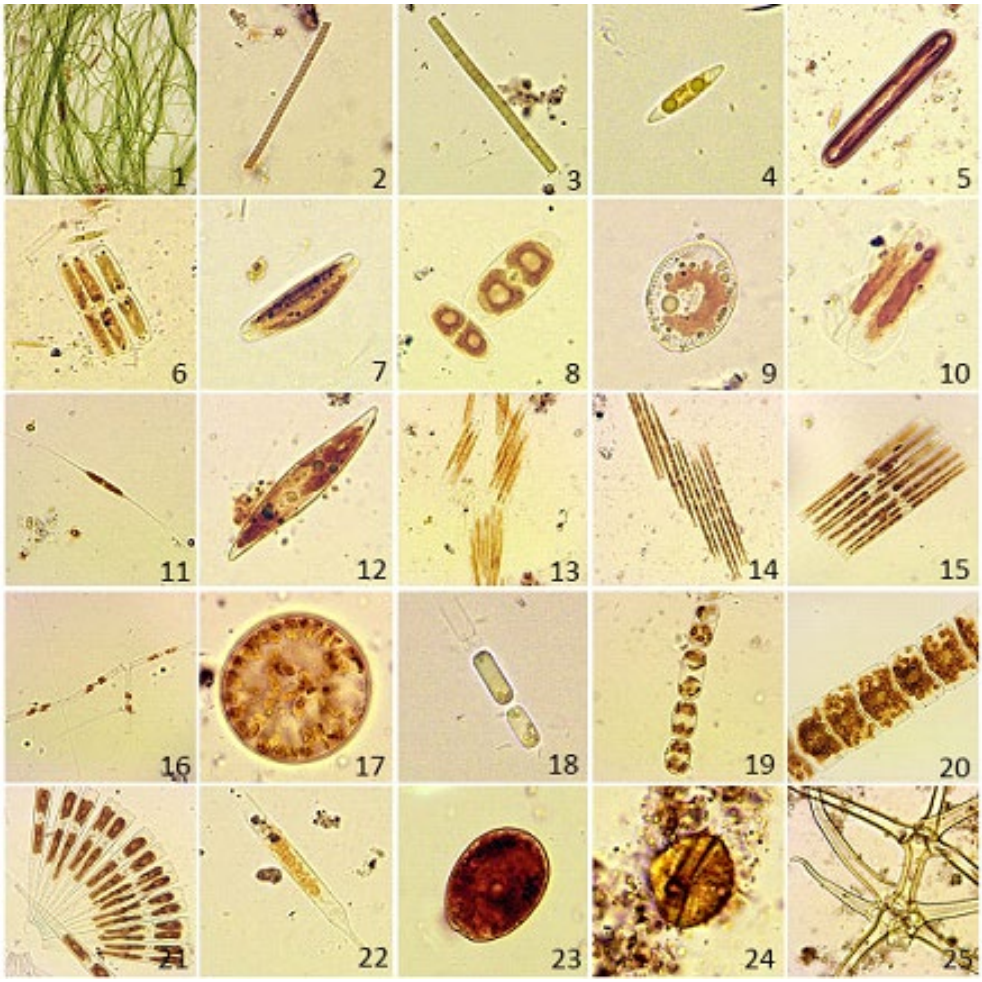


Fig.1. Representatives of the periphyton communities of the coastal water area of Sevastopol.
1, 2, 3 – Oscillatoriales Schaffner; 4 – *Navicula*; 5,6 – *Pinnularia*; 7 – *Cymbella* C.Agardh; 8 – *Amphora*; 9 – *Cocconeis* Ehrenberg; 10 – *Entomoneis* Ehrenberg; 11 – *Cylindrotheca*; 12 – *Pleurosigma* W. Smith; 13 – *Nitzschia*; 14, 15 – *Bacillaria*; 16 – *Thalassionema*; 17 – *Coscinodiscus* Ehrenberg; 18 – *Skeletonema* R. K. Greville; 19 – *Melosira* C.A. Agardh; 20 – *Achnanthes*; 21 – *Licmophora*; 22 – *Rhizosolenia* Brightwell; 23, 24 – Dinoflagellata; 25 – ribbon-shaped organisms.

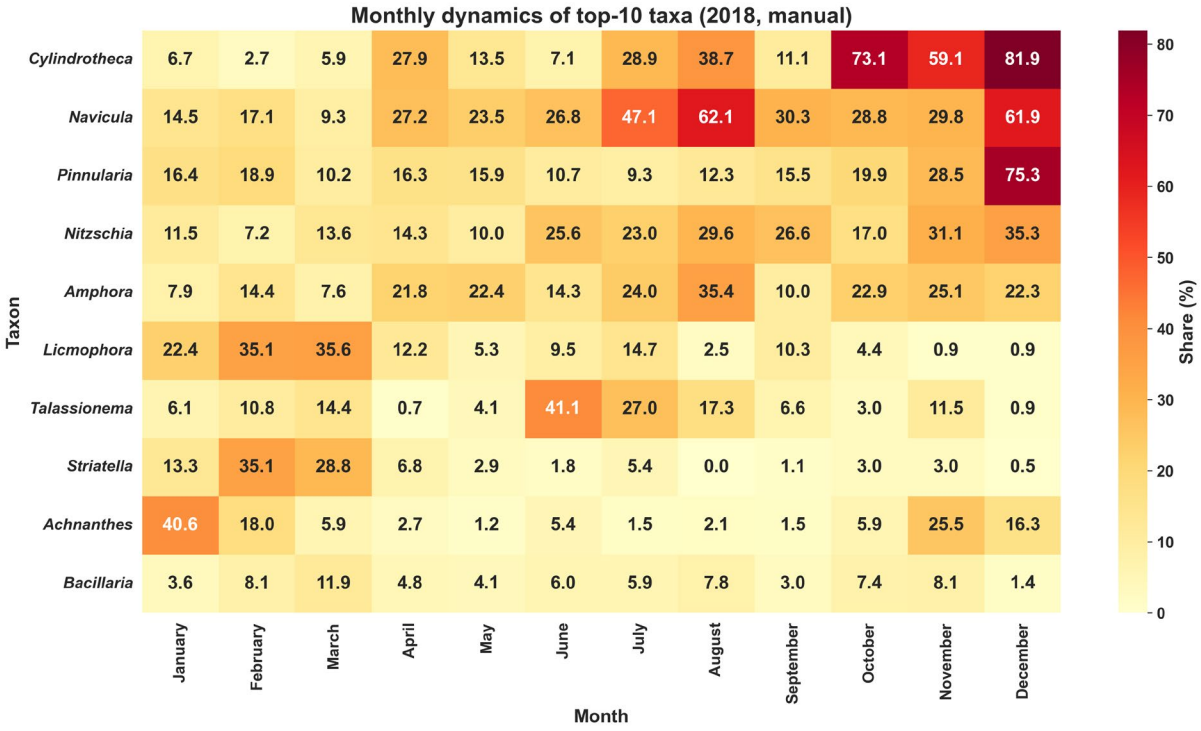


Fig.2. Occurrence of the main ten types of microalgae in periphyton samples during monthly sampling and manual counting in 2018.

Table 2. Taxa with their saprobity zones and saprobic indexes.

№ п/п	Taxon	The zone of saprobity	Index (s)	Minimum (s)	Max. (s)
1	*Achnanthes*	o – α	1.50	0.10	2.70
2	*Amphipleura* Kützing	o – β	1.10	0.50	1.80
3	*Amphora*	o – β	0.80	0.10	1.65
4	*Bacillaria*	β	2.80	2.80	2.80
5	*Cocconeis*	o – β	0.90	0.50	1.75
6	*Coscinodiscus*	β	2.15	1.80	2.50
7	*Oscillatoriales*	α	3.00	2.50	3.50
8	*Cylindrotheca*	β	2.15	1.80	2.50
9	*Cymbella*	β	1.71	1.71	1.71
10	*Desmogonium* C. G. Ehrenberg	o – β	1.15	0.50	1.80
11	*Dinophyta*	β	2.05	1.80	2.30
12	*Diploneis*	β	2.15	1.80	2.50
13	*Entomoneis*	β – α	2.50	2.00	3.00
14	*Licmophora*	β	2.05	1.80	2.30
15	*Melosira*	o	1.00	0.50	1.50
16	*Navicula*	β – α	2.45	2.00	2.90
17	*Nizschia*	β – α	2.85	2.70	3.00
18	*Pinnularia*	o – β	1.40	0.20	2.20
19	*Pleurosigma*	β	2.20	1.80	2.50
20	*Rhizosolenia*	o	1.20	1.20	1.20
21	*Skeletonema*	β	2.25	1.80	2.50
22	*Spirulina*	o – β	1.50	1.00	2.00
23	*Striatella*	β	2.15	1.80	2.50
24	*Tabellaria* Ehrenberg ex F.T.Kützing	o – β	0.75	0.10	1.40
25	*Talassionema*	β	2.15	1.80	2.50

At the next stage, the image markup was performed using the CVAT (Computer Vision Annotation Tool) program (Holicheva et al., 2025). A project was created in the program in which classes (labels) corresponding to 25 taxa of microalgae were defined. A task was created inside the project, corresponding to the subsamples into which the previously prepared images were uploaded (Fig. 1).

Next, the images were marked up to implement the segmentation task. The marking was performed using the polygonal tool of the CVAT program. (Fig. 3).

After the markup was completed, the data was exported from CVAT. Each task was saved as a separate archive. To train YOLO models, a format was used that includes images and their corresponding markup text files.

Each image corresponds to a.txt file containing information about the classes of objects and the coordinates of their location relative to the size of the image. In this case, the name of the text file must completely match the name of the corresponding image, which is a prerequisite for correct training of the model.

As a result of data preparation, a directory structure was formed, including the folders “images” and “labels”, each of which contains the subfolders “train”, “validation” and “test”. The “images” folder contains the source images, and the “labels” folder contains the markup files. The distribution of the number of all objects in folders according to taxon classes is shown in (Fig. 4).

This structure is used as input data for training the selected YOLO11x-seg model. The model used belongs to the more complex and accurate versions of the YOLO family and is characterized by an increased number of parameters, which should ensure a higher quality of object recognition.

3.5. Training, validation and testing of a neural network model based on the YOLO architecture

The process of learning, validation and testing in computer vision is a strictly regulated sequence of actions. At the first stage, the model sees only the training sample, and its task is to minimize the loss function by adjusting the weights of the convolutional layers using the error backpropagation algorithm. The model sequentially processes small portions of images, calculates gradients, and updates parameters. Training is an iterative process of comparing data and metrics on a specific sample, which reflects the ability of the model to remember these relationships present in the training dataset. After each epoch or after a certain number of iterations, the currently trained model is run through a validation dataset that was not involved in updating the weights. At this stage, the same metrics are calculated, but their dynamics serve as an indicator of the generalizing ability of the model.

Fig.3. An example of marking microalgae in the CVAT program.

After the training is completed (that is, the validation metrics have reached an acceptable level), the testing stage begins. Up to this point, the test sample is kept in isolation. It is not used either for hyperparameter selection or for early stopping of model training. When all the settings are completed, the model is run through the test dataset once, and the resulting metrics are calculated. These values are considered an objective assessment of the quality of the model in conditions close to real operation.

As part of the study, a microalgae segmentation model was trained to identify objects at the pixel level. The training was performed using the YOLO11x-seg architecture in segmentation mode with the following parameters: the input image size is 640×640 pixels, the number of epochs is 140, with standard data optimization and augmentation settings.

In the learning process, two types of metrics are formed: 1) by Box (detection) and 2) by masks (segmentation). The division into (Box) and (Mask) allows you to determine exactly where the failure occurs - the model does not find objects well or poorly defines the contours of segmented elements.

During the training process, graphs of the loss function on the training and validation set of images are analyzed: Box Loss is an error in the coordinates of the box, Seg Loss is an error in the pixels of the mask, Cls Loss is an error in determining the class, DFL Loss is an error in the regression of boundaries (corners, edges) (Figs. 5 and 6). Loss functions are mathematical expressions that quantify how much a model's predictions deviate from the actual values.

The error estimation on the training and validation set of images serves as an indicator by which the learning state of the model is determined.

One of the important metrics used to evaluate the learning outcomes of the "computer vision" model is the Mean Average Precision (mAP), which reflects the effectiveness of object detection as a number from 0 to 1. It is calculated twice: 1) separately for bounding boxes (Box mAP) and 2) for pixel masks (Mask mAP) (Fig. 7). This allows you to understand where the model is stronger in detecting objects or in accurately highlighting their contours. Both metrics are based on curves (accuracy and completeness) Precision-Recall for each class (Fig. 8).

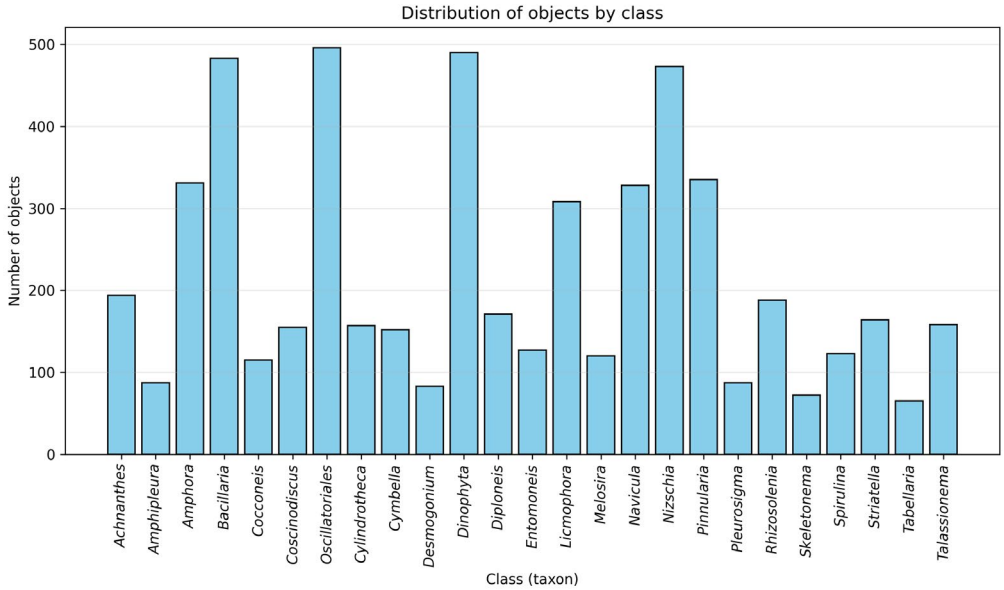


Fig.4. Distribution of the number of objects according to taxon classes.

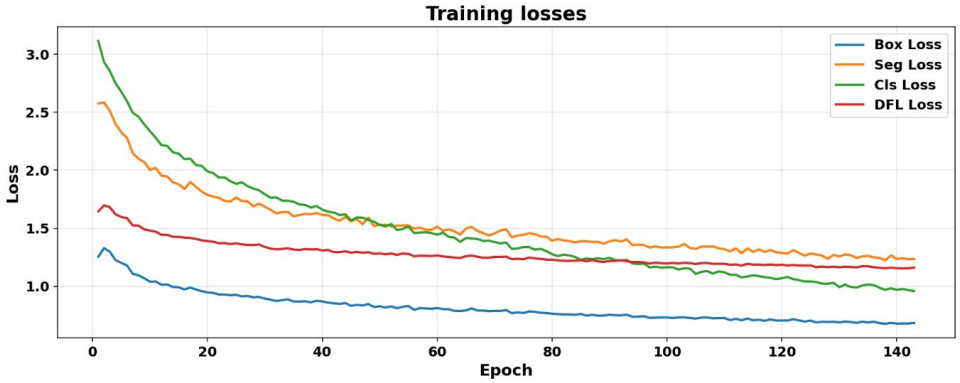


Fig.5. Graph of changes in loss functions on the training set of images.

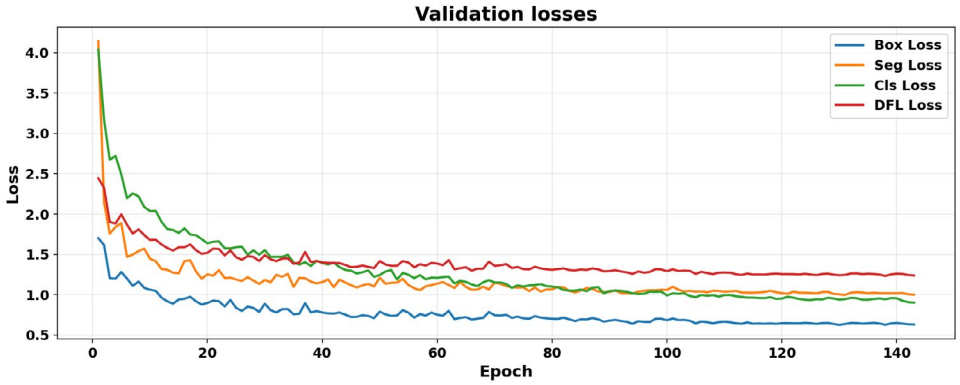


Fig.6. Graph of changes in loss functions on the validation set of images.

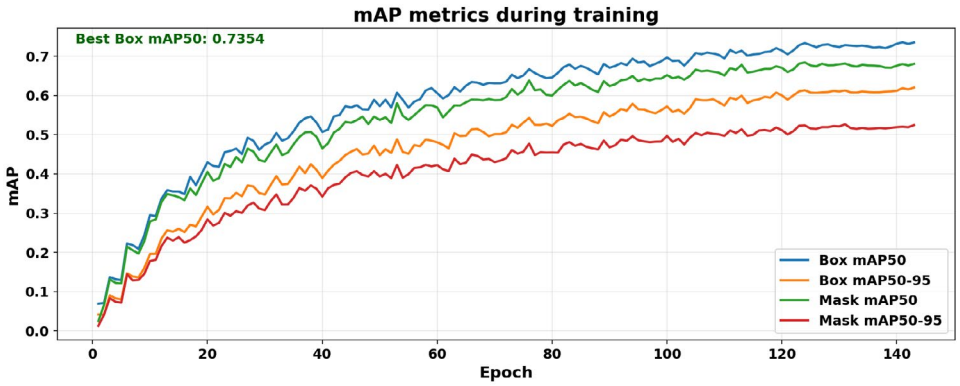


Fig.7. Graph of changes in the average (respectively, 25 classes of taxa) mAP values depending on the epoch of learning.

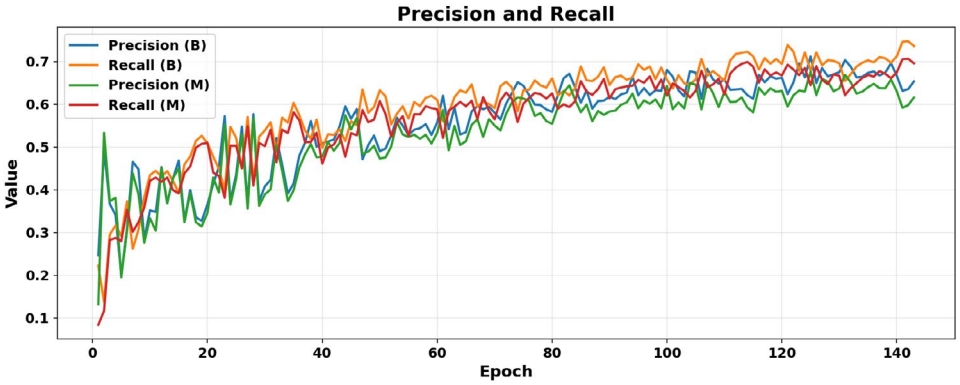


Fig.8. Graph of curves (accuracy and completeness) Precision-Recall averages (corresponding to 25 classes of taxa), depending on the age of study.

Two main variants were used in the results of the YOLO model:

- mAP@0.5 (a more “soft” standard). A hit is counted if the prediction intersects with the truth (IoU is a metric in computer vision that measures the degree of overlap between the predicted area (for example, the bounding box or segmentation mask) and the true area (ground truth–) more than 50%. It shows well whether the model is able to find objects at all.;
- mAP@0.5:0.95 (a stricter “gold standard”). The mAP averages over 10 IoU thresholds from 0.5 to 0.95. It requires a perfect contour match from the model and is considered the main indicator for comparing models.

Figure 9 shows images of the F1 metric (or F1-measure, F1-score), which is the average parameter between Precision and Recall. This is a balanced indicator that shows how well the model works overall, taking into account both types of errors (false positives and missing objects).

Since the validation sample is not involved in training, but it is involved in setting up hyperparameters (according to its metrics, it was decided to stop training (early stop) at epoch 143, it was decided to choose the model size and apply augmentation) It was concluded that the model, although indirectly, “saw” the validation sample. Based on this, a test sample is always used that the model has not “seen”. The results of the final assessment on the test set (860 images, 1072 objects) are presented in Table 3.

3.6. Approbation of the model for assessment of the ecological state of the investigated water body

After testing the model, an array of microscopic images was processed to assess the quality of the water body. The initial data used were images obtained during observations of the water area for the period from 2017 to 2026, however, data for 2018 were selected for further analysis, since, as noted earlier, there was a complete set of data for it without missing months. The set also featured photographs with multicomponent and structurally complex microalgae. The choice is also justified by the need to test the model’s operability using such complex examples.

In order to automate the process of practical application of the trained segmentation model, a Python web application was developed. The application provides loading of the trained YOLO model, performing segmentation, processing results and calculating statistical indicators.

The application automatically calculates the number of processed images, the number of images with and without detected objects, the total number of objects found, the average number of objects in all images, the distribution by gender, the index of reliability and processing time. To automate calculations, Table 2 was pre-integrated into the application. During image processing, the segmentation model determined whether objects belonged to the corresponding taxa and counted the number of representatives of each genus.

To assess the correctness of the model, images with selected objects and their masks were obtained (Fig. 10).

To assess the quality of the proposed methodology for improving environmental monitoring using artificial intelligence (computer vision) technologies, a comparative analysis of the results of automatic recognition of microalgae with data obtained by an expert during manual processing of the same images was performed. The results of the calculation and determination of the generic composition performed by a specialist during microscopy were used as reference data.

The comparison was based on the total number of objects discovered for each genus in 2018. The results of the expert calculation of the main taxa are shown in (Fig. 2), and the data of the automated analysis in (Fig. 11).

For clarity, a comparative graph of the distribution of the number of microalgae by genus was constructed (Fig. 12), which shows two dependencies (the

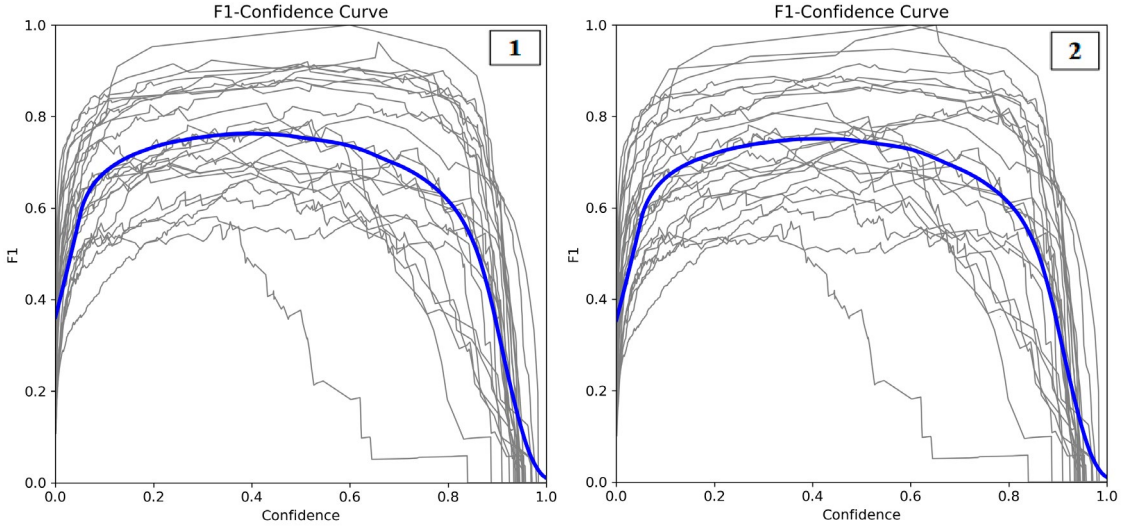


Fig.9. The F1 value averaged over all classes: 1 – for Box (reaches 0.70 with a confidence threshold of 0.342); 2 – for Mask (reaches 0.68 with a confidence threshold of 0.337).

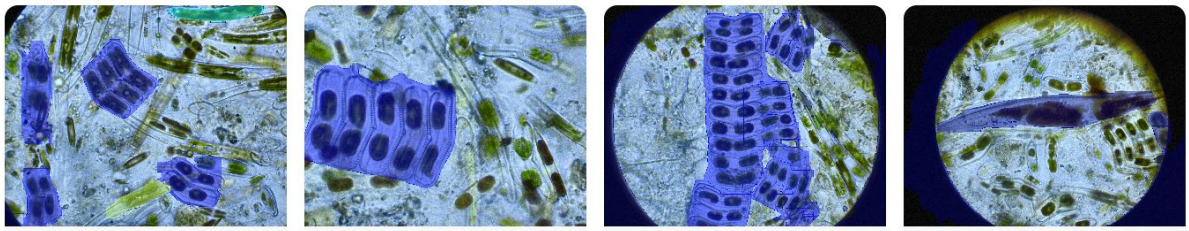


Fig.10. Examples of visual application results.

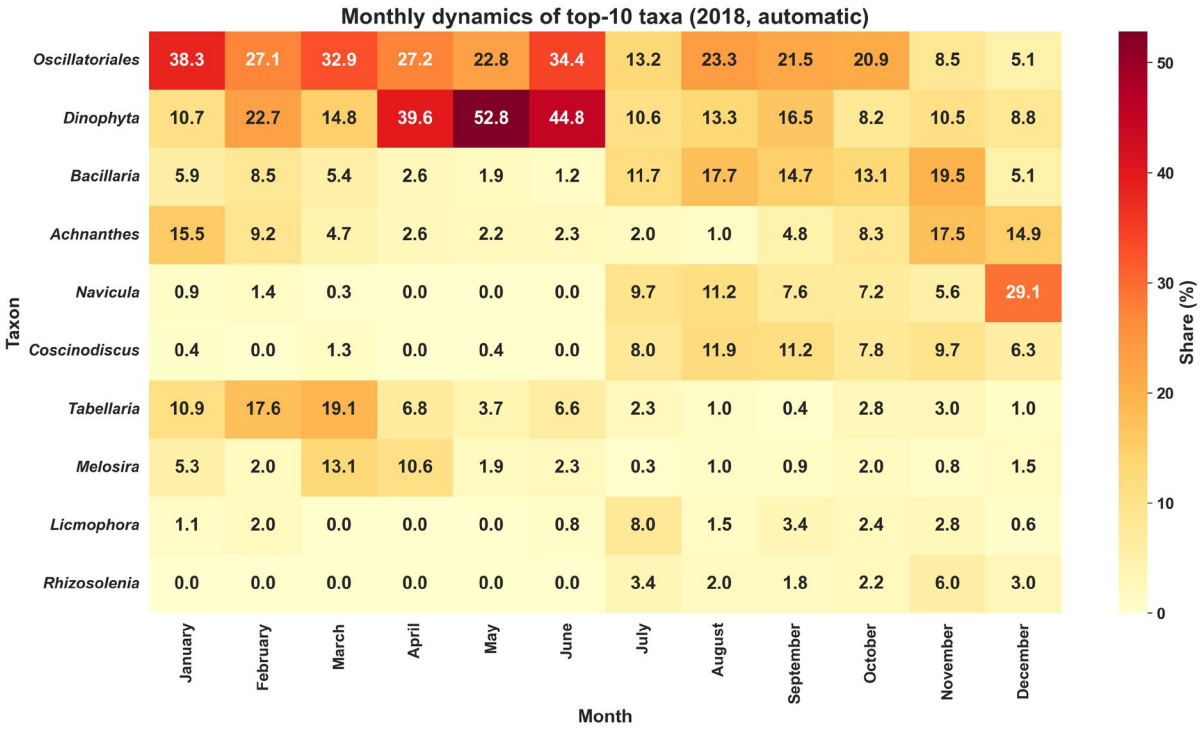


Fig.11. Occurrence of the main ten types of microalgae in periphyton samples during monthly sampling with automatic counting in 2018.

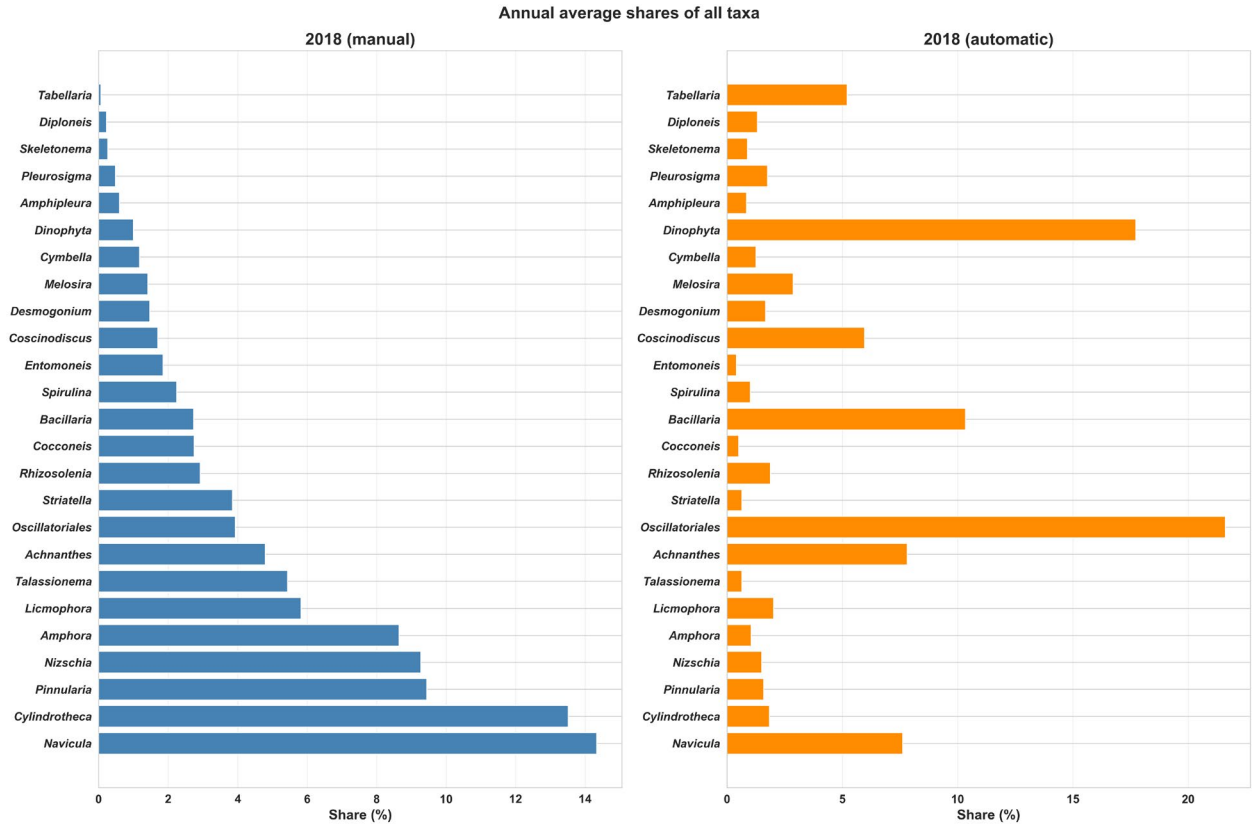


Fig.12. Comparison of the average annual proportions of all taxa depending on the image processing method.

Table 3. General metrics for all classes based on the assessment results in the test sample.

Type of bounding box	Precision	Recall	mAP@0.5	mAP@0.5:0.95
Box (detection)	0.742	0.793	0.8125	0.6617
Mask (segmentation)	0.739	0.773	0.7909	0.5336

results of expert manual assessment and automated counting), and the contribution of each taxon to the overall saprobic index was studied depending on the image processing method (Fig. 13).

The article also analyzed the dynamics of changes in the saprobic index depending on the season of the year and assessed the contribution of the influence of the taxa with the largest increase in number in the determination using automatic counting (Fig. 14).

4. Discussion

During the automated analysis and subsequent comparison with the expert assessment, discrepancies were identified due to a number of factors related to both the characteristics of the training sample and the specifics of the research objects themselves.

One of the key reasons for errors is the data markup technique used. The markup was performed according to the standards used for typical computer vision objects, which turned out to be insufficient for multicomponent and structurally complex microalgae. As a result, three main types of errors related to this factor were identified.

First, there is a morphological similarity of individual genera of microalgae, which affects their correct recognition by the model and leads to classification errors. Examples are the genera *Amphipleura* and *Navicula*, *Amphora* and *Diploneis*, *Bacillaria* and *Talassionema*, *Cylindrotheca* and *Rhizosolenia*, *Melosira* and *Skeletonema*, *Striatella* and *Tabellaria* (Fig. 15). The model confuses these genera with each other.

Second, segmentation errors are recorded, which manifest themselves in combining closely spaced objects into one mask or in the excessive division of one object into several. This error occurred due to the incomplete and consistent markup of the data, which leads to incorrect definition of the boundaries of objects.

Third, the limitations of the model in recognizing complex shapes characteristic of a number of taxa are revealed. Despite the fact that the data markup was performed correctly for typical objects, it was found that in order to improve recognition accuracy, it is necessary to take into account individual structural elements (for example, covers, heterocysts, akinets, damaged cells), as well as use specialized marking approaches focused on the features of microscopic objects. In the future, the marking technique will be revised, taking into account

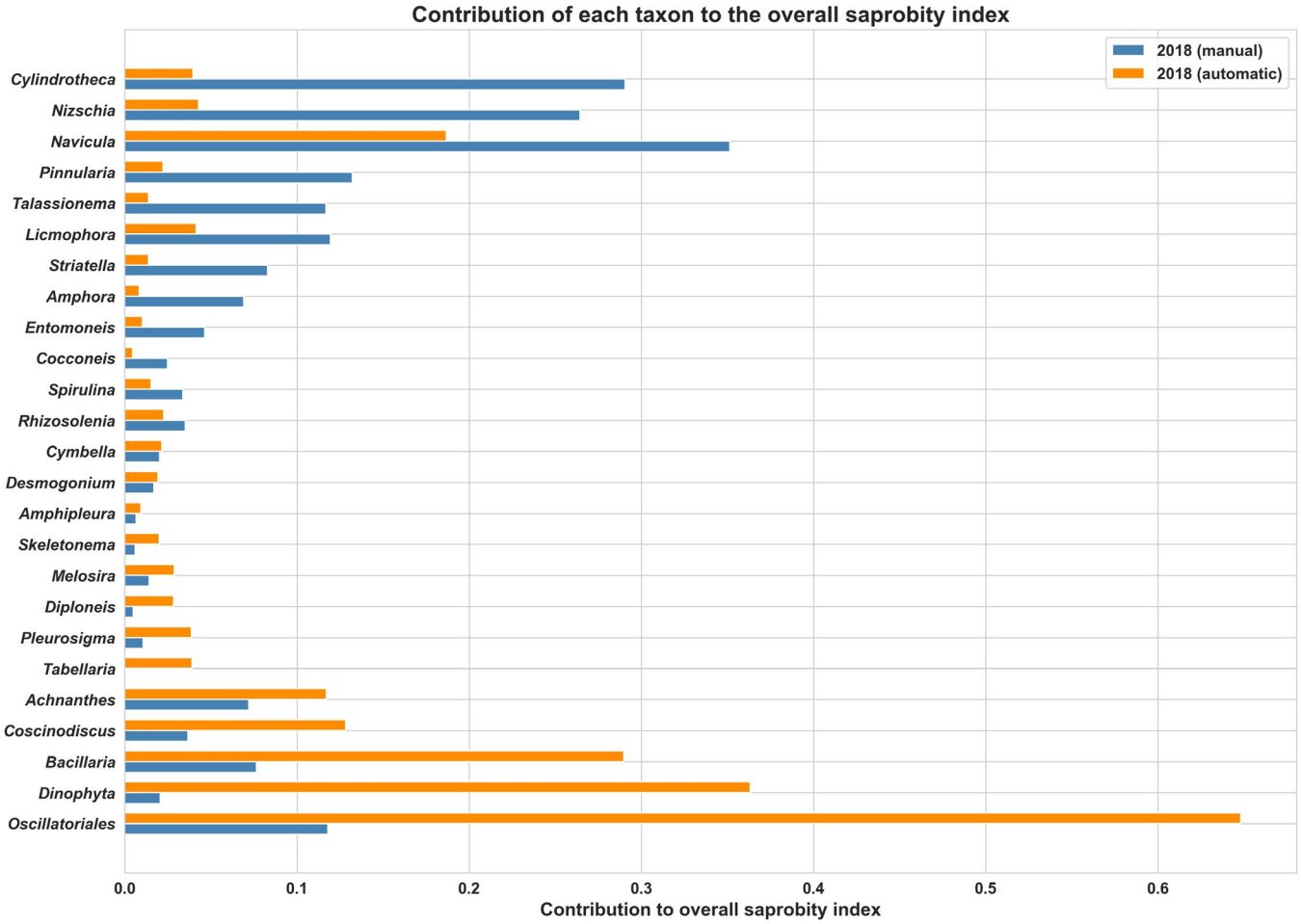


Fig.13. The contribution of each taxon to the overall saprobic index, depending on the image processing method.

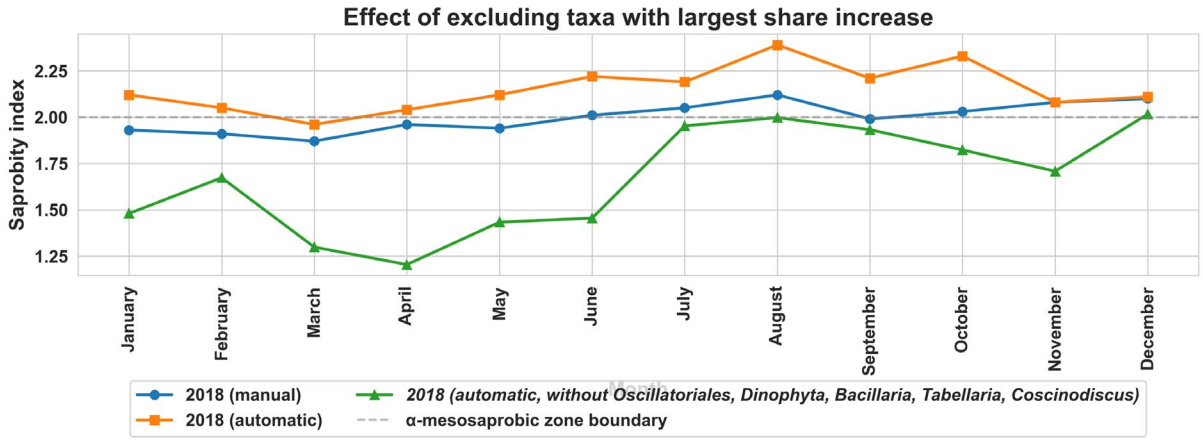


Fig.14. Dynamics of changes in the saprobic index depending on the image processing method and calculated with adjustments minus abnormally high values of individual taxa.

the allocation of additional morphological classes and a more detailed description of the structure of objects.

Fourth, the distribution of data is an important factor. Due to the lack of the necessary high-quality images for marking up the dataset, the sample turned out to be uneven (Fig. 4 – 4 genera contain more than 400, 4 more genera ~300 and at the same time 9 genera ~100 photos). As a result, the model demonstrates higher accuracy for common genera and less stable results for rare taxa. This led to a shift in the final estimates and affected the correctness of the analysis of the saprobic index and, accordingly, the assessment of the ecological state of the water body (Fig. 14). However, by adjusting the calculation of the saprobic index by subtracting the taxa that showed abnormal growth due to the imbalance of the training sample, the water body can be classified as conditionally clean during the year.

Fifth, a group of factors is related to the characteristics of the original images. First of all, it is the presence of background elements (bubbles, inorganic inclusions), which can be perceived by the model as parts of recognition objects (Fig. 16). This indicates the need for more thorough data filtering and, if necessary, the introduction of a separate "background" class when training the model. The crowding of objects, the quality and clarity of their boundaries, the noise level and the contrast of images have an additional impact on object recognition (Fig. 16). It should be noted that the quality of the source photos is generally acceptable for training, but the specifics of microscopic objects require stricter requirements for the visual characteristics of the data.

An important role is also played by the extension of the boundaries of the taxon beyond the boundaries of the photograph and the overlap of objects in the images, which leads to ignoring incomplete objects in the definition, since the model was trained on whole photographs of microalgae with a continuous closed boundary (Fig. 16).

The results obtained show that the use of standard methods without adaptation to the subject area inevitably leads to distortions, but at the same time confirm the fundamental applicability of the chosen approach. This allows us to consider the identified limitations not as disadvantages of the model, but as guidelines for its further development, aimed at moving from formal recognition to a more meaningful analysis of the structure and condition of microalgae.

5. Conclusions

A technique for automated recognition of microalgae for assessing the state of the aquatic environment has been developed and tested.

Using computer vision techniques, a segmentation model was trained to isolate and classify objects in microscopic images.

A web application has been created that provides a full cycle of microscopic image processing.

The proposed technique uses automatic object counting, which improves the objectivity and reproducibility of the results.

Fig.15. Examples of genera that are similar in appearance.

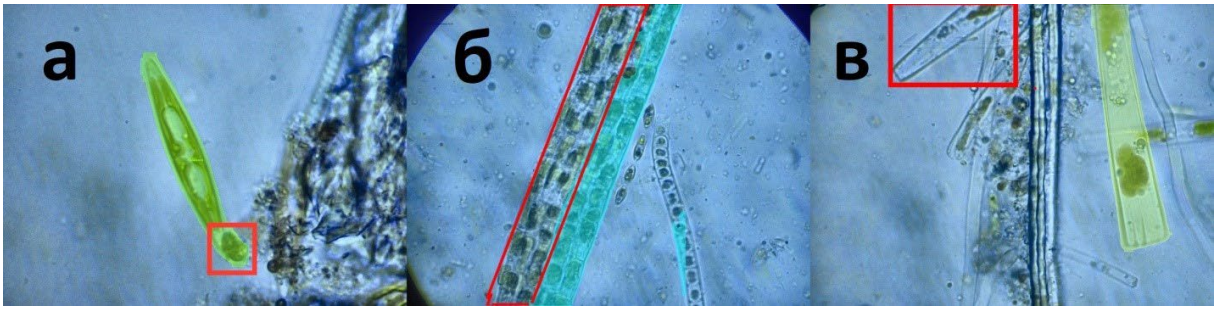


Fig.16. Features of the initial data: а – organic matter; б – clarity and noise level; в – overlap and exit of the boundaries of the taxon beyond the boundaries of photography.

A comparison of the results of the model with the expert assessment showed a satisfactory agreement in determining the structure of microalgae communities, despite the presence of some quantitative discrepancies.

The analysis made it possible to identify the main limitations of the developed model related to the specifics of microscopic objects, markup features and the structure of the training sample, while it was found that these limitations are manageable.

Acknowledgements

The research was carried out within the framework of the state assignment of the Institute of Natural and Technical Systems on the topic (state registration no. 124013000609-2) “Fundamental and applied research of patterns and mechanisms of formation of regional environmental and climate changes under the influence of global processes in the ocean-atmosphere system” (FFMM-2024-0017)” and the cooperation agreement with the Black Sea State Educational Institution of Higher Professional Education Higher Naval Order of the Red Star School named after P.S. Nakhimov”.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest.

References

Andreeva N.A. 2015. Mikrotsenozy v morskoy akvatorii s povyshennoy stepen’yu evtrofikatsii [Microcenoses in a marine area with increased eutrophication]. Sistemy kontrolya okruzhayushchey sredy [Environmental Control Systems] 2(22): 111–122. (in Russian)

Barinova S.S. 1996. Atlas of algae – indicators of saprobity (Russian Far East). Vladivostok: Dal’nauka. (in Russian)

Egorkin A.A., Andreeva N.A. 2026. Improvement of environmental monitoring methods for water bodies using artificial intelligence technologies. In: Modern methods of assessment and rational use of aquatic biological resources: Proceedings of the III International Scientific and Practical Conference, Moscow, November 17–21, 2025. Moscow: VNIRO. EDN GDDHZS, pp. 50–53. (in Russian)

Guslyakov N.E., Zakordonets O.A., Gerasimyuk V.P. 1992. Atlas of benthic diatom algae of the northwestern Black Sea and adjacent water bodies. Kiev: Naukova dumka. (in Russian)

Holicheva A.A., Kozlov K.S., Boiko D.A. et al. 2025. Deep generative modeling of annotated bacterial biofilm images. npj Biofilms and Microbiomes 11: 16. DOI: 10.1038/s41522-025-00647-4

Komárek J., Anagnostidis K. 1998. Cyanoprokaryota 1. Chroococcales. In: Ettl H., Gärtner G., Heynig H., Mollenhauer D. (eds.). Süsswasserflora von Mitteleuropa 19/1. Jena: Gustav Fischer.

Komárek J., Anagnostidis K. 2005. Cyanoprokaryota 2. Oscillatoriales. In: Büdel B., Krienitz L., Gärtner G., Schagerl M. (eds.) Süsswasserflora von Mitteleuropa 19/2. Heidelberg: Elsevier/Spektrum.

Kovtun O.A., Snigireva A.A. 2012. Guidelines for the study of phytomicrobenthos and phytoperiphyton. Odessa: Odessa National University named after I.I. Mechnikov. (in Russian)

Pawłowski J., Majchrowska S., Golan T. 2022. Generation of microbial colonies dataset with deep learning style transfer. Scientific Reports 12: 5212. DOI: 10.1038/s41598-022-09264-z

Spahn C., Gómez-de-Mariscal E., Laine R.F. et al. 2022. DeepBacs for multi-task bacterial image analysis using open-source deep learning approaches. Communications Biology 5: 688. DOI: 10.1038/s42003-022-03634-z

Stupina V.V. 1977. Unifitsirovannye metody issledovaniya kachestva vod. Ch. 3. Unified methods for water quality research. Part 3. Methods of biological analysis of water. Appendix 1. Indicators of saprobity. Moscow: Nauka. (in Russian)

Vasil’ev M.E., Shalimov A.S., Savina O.A. 2025. Review of YOLO versions: single-stage convolutional neural network model. Universum: Technical Sciences 6(135). (in Russian)

Оригинальная статья

Применение технологий искусственного интеллекта как элемента совершенствования методики экологического мониторинга акватории Черного моря

Егоркин А.А.[1,2]*, Андреева Н.А.[1]

[1] *ФГБНУ Институт природно-технических систем, ул. Гоголя д. 14, г. Севастополь, 299011, Россия*
[2] *ФГКВОУ ВПО «Черноморское высшее военно-морское орденов Нахимова и Красной Звездыучилище имени П.С.Нахимова», ул. Дыбенко, д. 1а, г. Севастополь, 299028, Россия*

АННОТАЦИЯ. Данная статья посвящена результатам экспериментального исследования, целью которого было оценить возможность применения технологий искусственного интеллекта для совершенствования методики экологического мониторинга акватории Черного моря, осуществляемого использованием модели компьютерного зрения (YOLO). Основой экологического мониторинга водных объектов является определение загрязненности, количественной характеристикой которой в данном исследовании был выбран индекс сапробности. Сапробность характеризуется степенью загрязнённости водоёма органическими веществами и продуктами их распада. Она определяется по видовому составу организмов (сапробионтов), обитающих в воде и их количеству (частоты встречаемости). В качестве сапробионтов были выбраны микроводоросли перифитона, служащие индикаторами на присутствие органических веществ. Состав и количество микроводорослей, участвующих в процессе микрообрастания, определялись применением метода «стекол обрастания» путем установления стекол в исследуемой прибрежной акватории. Идентификация и подсчет частоты встречаемости микроводорослей, присутствующих в определенный момент времени в акватории, осуществлялся при микроскопировании образцов микрообрастаний. Определенный состав микроводорослей позволил вычислить индекс сапробности исследуемого водного объекта и сделать вывод о его загрязненности. Данный способ требует участия высококвалифицированных специалистов и затраты времени для обработки результатов микроскопирования. В связи с этим, для ускорения процесса в качестве элемента совершенствования методики экологического мониторинга акватории Черного моря, были использованы технологии искусственного интеллекта. Применение модели компьютерного зрения (YOLO) позволило сократить время исследования, оценить качество водного объекта, что подтвердило эффективность применения предлагаемой технологии с целью совершенствования экологического мониторинга водных объектов.

Ключевые слова: биоиндикация, сапробность, микроводоросли, экологический мониторинг, нейронные сети, компьютерное зрение

Для цитирования: Егоркин А.А., Андреева Н.А. Применение технологий искусственного интеллекта как элемента совершенствования методики экологического мониторинга акватории Черного моря // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - С. 258-282. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-258

1. Введение

Экологический мониторинг водных объектов приморской территории производится различными способами, выбор которых определяется видом загрязняющих веществ водной среды.

Загрязнение водного объекта происходит при выпадении осадков, содержащих загрязняющие вещества, стоков (сбросов) загрязненных вод с территории промышленных объектов и при аварийных ситуациях при работе с нефтепродуктами.

*Автор для переписки. Адрес e-mail: egorkin1974@yandex.ru (А.А. Егоркин)

Поступила: 22 июня 2026;
Принята после доработки: 26 июля 2026;
Опубликована online: 28 августа 2026

© Автор(ы) 2026. Эта работа распространяется под международной лицензией Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.

Одним из методов определения загрязнения водной среды является метод биоиндикации. Метод биоиндикации как элемент совершенствования мониторинга предполагает оценку качества природной среды по состоянию обитающих в данном водном объекте живых организмов. В основе метода лежат наблюдения за составом и численностью видов индикаторов - организмов, которые наиболее чувствительны к изменениям среды. Метод биоиндикации был выбран как наиболее чувствительный к изменениям водной среды в результате антропогенного воздействия.

Водоросли как биоиндикаторы быстро и предсказуемо реагируют на широкий спектр загрязняющих веществ. Они служат ранними индикаторами ухудшения состояния окружающей среды. Для характеристики уровня загрязненности воды органическими веществами используют понятие сапробности водоема (Егоркин и Андреева, 2026).

Сапробность – количественное определение биологических видов, обитающих в воде, называемыми сапробионтами. В качестве сапробионтов использовались микроводоросли перифитона. Они обладают комплексом физиолого-биохимических особенностей, обусловливающих их способность обитать в воде с тем или иным уровнем содержания органических веществ (степенью загрязнения). Выделяют олигосапробные, мезосапробные и полисапробные (наиболее загрязненные) водоемы. Каждому виду сапробионта соответствует индекс сапробности.

Морфология перифитонных микроводорослей варьирует в зависимости от типа субстрата и условий среды; они могут образовывать нитевидные, слизистые или пленкообразные структуры, а также иметь широкое разнообразие форм, от одноклеточных до колониальных и, в зависимости от вида, иметь различную конфигурацию, размер и цвет. В целом, перифитон представляет собой сообщество микроскопических организмов, колонизирующих подводные поверхности в водной среде. Микроводоросли перифитона принимают участия в процессах биологического самоочищения и формирования качества вод. Особенно актуально это в прибрежной зоне моря (Ковтун и Снигирева, 2012).

Одним из методов, используемых в настоящее время для определения состава и количества микроводорослей, является метод «стекол обрастания» (Егоркин и Андреева, 2026). Метод осуществляется путем погружения специально подобранных стекол в водную среду прибрежной зоны Черного моря.

Идентификация и подсчет частоты встречаемости микроводорослей, присутствующих в определенный момент времени в акватории, осуществлялся при микроскопировании образцов микрообрастаний. Данный метод требует наличие высококвалифицированных специалистов и затраты времени для обработки результатов микроскопирования. В связи с этим для ускорения процесса, в качестве элемента совершенствования методики экологического мониторинга акватории Черного моря, предполагалось использовать технологии искусственного интеллекта (Егоркин и Андреева, 2026). Апробация предлагаемого метода усовершенствования представлена в данной работе.

Цель экспериментального исследования - оценить возможность применения технологий искусственного интеллекта для совершенствования методики экологического мониторинга акватории, осуществляемого использованием модели компьютерного зрения (YOLO).

Задачи исследования:

1. Анализ результатов применения метода биоиндикации и определение сапробности.
2. Разработка алгоритма применения технологий искусственного интеллекта - компьютерного зрения для определения сапробности.

2. Материалы и методы

Биоиндикация и определение сапробности проводились с применением метода «стекол обрастания», установленных в исследуемой прибрежной акватории.

Были проведены следующие действия:

- три стекла (размер 25 х 75 мм) закрепляли в резиновой трубке с прорезями на расстоянии 50 мм друг от друга;
- первое стекло погружали на глубину 100 мм;
- погружение и выемку стекол из воды проводили ежемесячно;
- организмы перифитона исследовали в суспензии соскобов;
- для изучения морфологии цианобактерий и микроводорослей перифитона в прижизненных препаратах использовали световой микроскоп Levenhuk 740T при увеличении х 400;
- фотографирование культур проводилось при помощи цифровой насадки с использованием соответствующей компьютерной программы Levenhuk ToupView и дальнейшей обработкой изображений в программе Adobe Photoshop CS3 Extended;
- таксономическую принадлежность микроводорослей устанавливали при помощи определителей (Гусляков и др., 1992; Komárek and Anagnostidis, 1998; 2005).

После определения видового состава микроводорослей был рассчитан индекс сапробности (S), который вычислялся по формуле:

$$S = \frac{\sum_{i=1}^{N}\left(s_i - h_i\right)}{\sum_{i=1}^{N} h_i}, \qquad (1)$$

где:

N – число выбранных видов-индикаторов;

h_i – относительная численность i-го вида (Таблица 1);

s_i – ндивидуальный индекс сапробности i-го вида.

Индекс сапробности – это среднее значение

Таблица 1. Соотношение значений относительного обилия и частот встречаемости организмов.

Встречаемость	Количество экземпляров одного вида, % от общего количества	h_i, баллы
Очень редко	< 1	1
Редко	2–3	2
Нередко	4–10	3
Часто	10–20	5
Очень часто	20–40	7
Массово	40–100	9

сапробности всех найденных видов, с учетом их обилия.

Расчёт количества экземпляров отдельного представителя перифитонного сообщества микроводорослей в определённый период (месяц) от общего количества производился по формуле:

$$B = \frac{N}{A}100, \quad (2)$$

где:

B – процент встречаемости, %;

N – количество представителей данного таксона во всех исследованных полях зрения;

A – число исследованных полей зрения.

Индекс сапробности указывался с точностью до 0,01. По значению индекса сапробности определялась степень загрязнения водоема: 0,5 – 1,5 – о – олигосапробная зона (чистая вода), 1,51 – 2,5 – β – мезосапробная зона (умеренно загрязненная вода), 2,51 – 3,5 – α – мезосапробная зона (грязная вода), 3,51 – 4,50 – р – полисапробная зона (сильно загрязненная вода) (Ступина, 1977).

Рассмотренная методика определения сапробности и соответственно оценка качества водного объекта осуществлялась в результате длительного временного периода. Для ускорения процесса с целью совершенствования методики проведения экологического мониторинга на основе данных применения метода «стекол обрастания» было проведено дальнейшее экспериментальное исследование с применением технологий искусственного интеллекта.

Современные методы искусственного интеллекта позволяют автоматизировать анализ изображений, что особенно актуально при работе с большим объёмом микроскопических данных. В микроскопических исследованиях это даёт возможность значительно ускорить обработку информации и снизить влияние субъективного фактора, характерного для традиционного визуального анализа (Pawłowski et al., 2022).

В задачах компьютерного зрения выделяют три основных направления: классификацию, детекцию и сегментацию изображений. Сегментация является более детализированным подходом и включает выделение точных границ объекта, что дает возможность более полно описать форму микроводорослей и их морфологические признаки.

В работе в качестве инструмента использовалась модель семейства YOLOv11, которая широко применяется для обработки изображений (Spahn et al., 2022; Васильев и др., 2025). В современных версиях, таких как YOLOv11-seg, реализована возможность решения задач детекции и сегментации в рамках единой архитектуры. Модель предоставляет информацию о классе объекта, вероятности распознавания и его положении на изображении, а при сегментации дополнительно формирует маску объекта.

Алгоритм совершенствования методики включал следующие этапы:

1. Составление базы данных и фотогалереи таксонов микроводорослей.
2. Определение встречаемости различных таксонов микроводорослей по результатам работы эксперта - микробиолога.
3. Выбор таксонов микроводорослей для проведения исследования.
4. Создание обучающей, валидационной и тестовой выборки для моделирования.
5. Обучение, валидация и тестирование модели нейронной сети на основе архитектуры YOLO.
6. Апробация модели для оценки экологического состояния исследуемого водного объекта.

3. Результаты

3.1. Составление базы данных и фотогалереи таксонов микроводорослей

Изучение перифитонных сообществ на «стёклах обрастания» в прибрежных акваториях Севастополя проводилось в течение восьми лет. При исследовании прибрежной акватории с антропогенным загрязнением было выявлено от 29 до 37 систематических единиц микроводорослей (Андреева, 2015).

Основными представителями перифитона в разные годы являлись диатомовые водоросли родов *Navicula* Bory, *Nizschia* Hassall, *Pinnularia* Ehrenberg, *Cylindrotheca* Gottlob Ludwig Rabenhorst, *Amphora* Ehrenberg ex Kützing. В отдельные периоды активно развивались *Achnanthes* de Saint-Vincent, *Bacillaria* J.F. Gmelin, *Licmophora* Carl Adolph Agardh, *Striatella* C. Agardh, *Thalassionema* A. Grunow ex C. Mereschkowsky и некоторые другие, а также представители осцилляториевых цианобактерий, в том числе, принадлежащих к роду *Spirulina* (*Arthrospira* Sitzenberger ex Gomont). Несколько реже встречались зелёные (Chlorophyta) и динофитовые (Dinophyta) водоросли.

На (Рис. 1) показаны некоторые представители перифитонных сообществ прибрежной акватории Севастополя.

3.2. Определение встречаемости различных таксонов микроводорослей по результатам работы эксперта - микробиолога

Средние данные по встречаемости разных представителей перифитона за 2018 гг. представлены на (Рис. 2). Данные за 2018 год для анализа были выбраны в связи с тем, что для данного периода имеется полный набор данных без пропусков по месяцам.

3.3. Выбор таксонов микроводорослей для проведения исследования

С целью определения индекса сапробности и оценки качества исследуемого водоема на основе анализа литературных источников были определены для представленных на (Рис. 1 и 2) микроводорослей индивидуальные индексы сапробности (Таблица 2) (Баринова, 1996; Ступина, 1977).

3.4. Создание обучающей, валидационной и тестовой выборки для моделирования

Микрофотографии выбранных таксонов микроводорослей подвергались специальной подготовке для использования в моделировании на основе технологии искусственного интеллекта (компьютерного зрения).

Первым этапом было присвоение изображениям уникальных имен, соответствующих названию таксона, для исключения возможных ошибок при дальнейшей обработке. В качестве шаблона наименования использовался формат «Название таксона_1.jpeg», где часть до символа подчёркивания соответствует названию рода микроводорослей, а числовой индекс после него порядковому номеру изображения.

Далее выполнено разделение массива изображений на подвыборки, которые были использованы в процессе обучения модели. В соответствии с требованиями модели семейства YOLO данные были распределены на три части: обучающая выборка (train) – 70% изображений, валидационная выборка (validation) – 15% и тестовая выборка (test) – 15%.

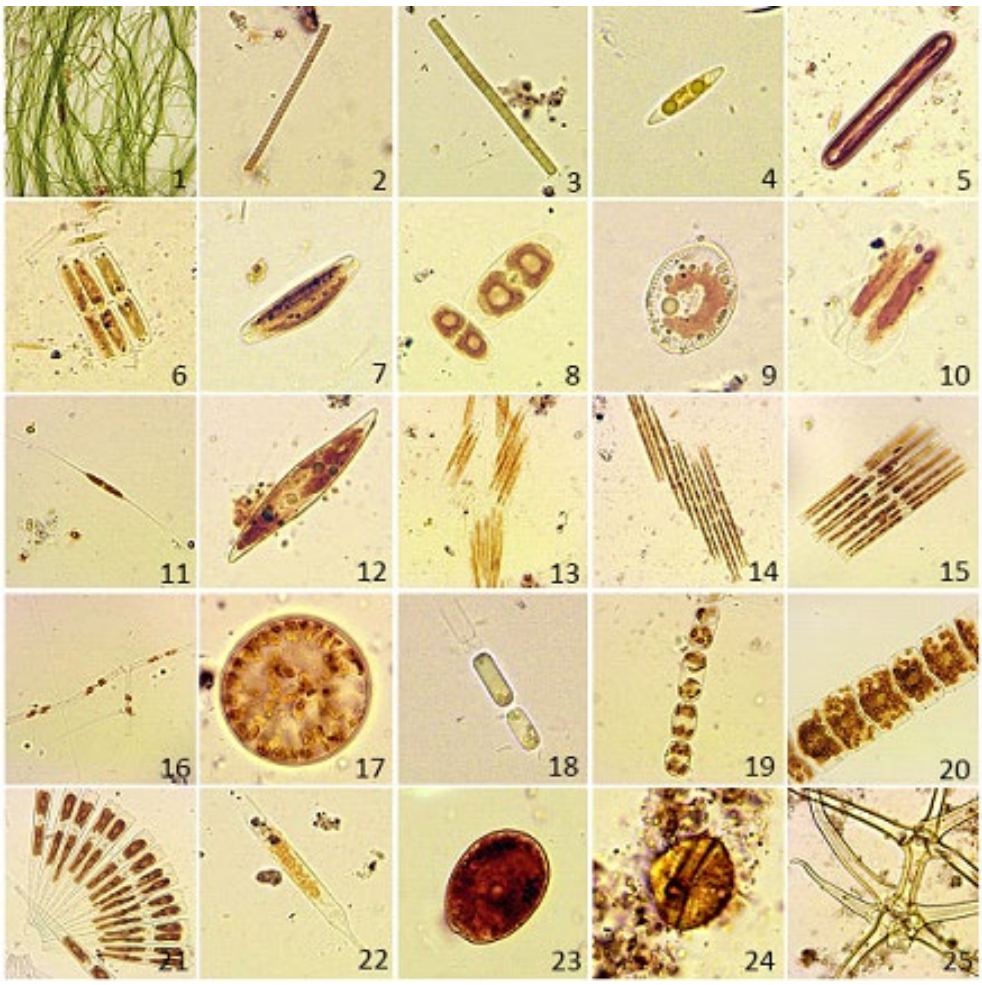


Рис.1. Представители перифитонных сообществ прибрежной акватории Севастополя.
1, 2, 3 – Oscillatoriales Schaffner; 4 – *Navicula*; 5,6 – *Pinnularia*; 7 – *Cymbella* C.Agardh; 8 – *Amphora*; 9 – *Cocconeis* Ehrenberg; 10 – *Entomoneis* Ehrenberg; 11 – *Cylindrotheca*; 12 – *Pleurosigma* W. Smith; 13 – *Nitzschia*; 14, 15 – *Bacillaria*; 16 – *Thalassionema*; 17 – *Coscinodiscus* Ehrenberg; 18 – *Skeletonema* R. K. Greville; 19 – *Melosira* C.A. Agardh; 20 – *Achnanthes*; 21 – *Licmophora*; 22 – *Rhizosolenia* Brightwell; 23, 24 – Dinoflagellata Bütschli; 25 – Лентообразные.

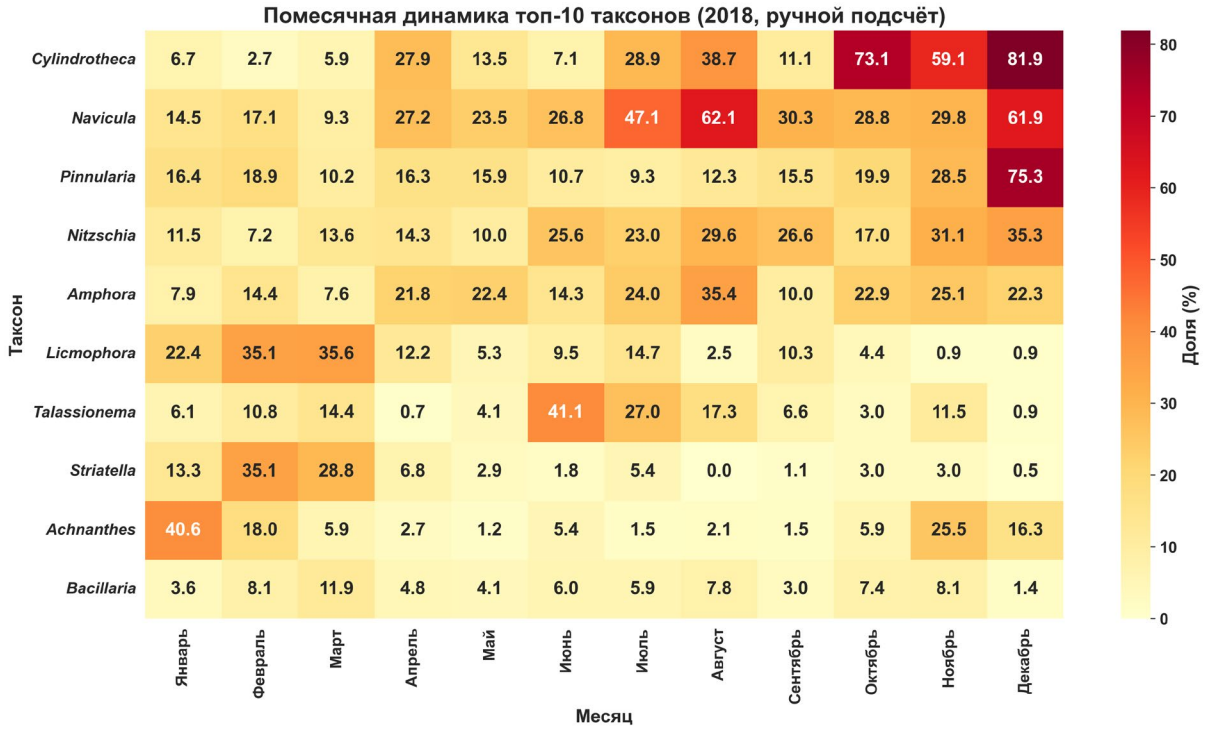


Рис.2. Встречаемость основных десяти типов микроводорослей в образцах перифитона при ежемесячном отборе проб и ручном подсчете в 2018 году.

Таблица 2. Таксоны с их зонами сапробности и сапробными индексами.

№ п/п	Таксон	Зона сапробности	Индекс (s)	Мин. (s)	Макс. (s)
1	*Achnanthes*	o – α	1,50	0,10	2,70
2	*Amphipleura* Kützing	o – β	1,10	0,50	1,80
3	*Amphora*	o – β	0,80	0,10	1,65
4	*Bacillaria*	β	2,80	2,80	2,80
5	*Cocconeis*	o – β	0,90	0,50	1,75
6	*Coscinodiscus*	β	2,15	1,80	2,50
7	*Oscillatoriales*	α	3,00	2,50	3,50
8	*Cylindrotheca*	β	2,15	1,80	2,50
9	*Cymbella*	β	1,71	1,71	1,71
10	*Desmogonium* C. G. Ehrenberg	o – β	1,15	0,50	1,80
11	*Dinophyta*	β	2,05	1,80	2,30
12	*Diploneis*	β	2,15	1,80	2,50
13	*Entomoneis*	β – α	2,50	2,00	3,00
14	*Licmophora*	β	2,05	1,80	2,30
15	*Melosira*	o	1,00	0,50	1,50
16	*Navicula*	β – α	2,45	2,00	2,90
17	*Nizschia*	β – α	2,85	2,70	3,00
18	*Pinnularia*	o – β	1,40	0,20	2,20
19	*Pleurosigma*	β	2,20	1,80	2,50
20	*Rhizosolenia*	o	1,20	1,20	1,20
21	*Skeletonema*	β	2,25	1,80	2,50
22	*Spirulina*	o – β	1,50	1,00	2,00
23	*Striatella*	β	2,15	1,80	2,50
24	*Tabellaria* Ehrenberg ex F.T.Kützing	o – β	0,75	0,10	1,40
25	*Talassionema*	β	2,15	1,80	2,50

Разделение осуществлялось отдельно для каждого рода микроводорослей с соблюдением указанного соотношения, что позволило сохранить баланс классов на всех этапах обучения и обеспечить корректную оценку качества модели. В результате в обучающую выборку было включено 3907 изображений, в валидационную – 841, в тестовую – 860.

На следующем этапе разметка изображений выполнялась с использованием программы CVAT (Computer Vision Annotation Tool) (Holicheva et al., 2025). В программе был создан проект, в котором были заданы классы (labels), соответствующие 25 таксонам микроводорослей. Внутри проекта было сформировано задание, соответствующее подвыборкам, в которые были загружены ранее подготовленные изображения (Рис. 1).

Далее была проведена разметка изображений для реализации задачи сегментации. Разметка выполнялась с использованием полигонального инструмента программы CVAT. (Рис. 3).

После завершения разметки данные экспортировались из CVAT. Каждое задание сохранялось в виде отдельного архива. Для обучения моделей YOLO использовался формат, включающий изображения и соответствующие им текстовые файлы разметки.

Каждому изображению соответствует файл формата.txt, содержащий информацию о классах объектов и координатах их расположения относительно размеров изображения. При этом наименование текстового файла должно полностью совпадать с именем соответствующего изображения, что является необходимым условием корректного обучения модели.

В результате подготовки данных была сформирована структура каталогов, включающая папки «images» и «labels», каждая из которых содержит подпапки «train», «validation» и «test». Папка «images» содержит исходные изображения, а папка «labels» – файлы разметки. Распределение количества всех объектов в папках согласно классам таксонов представлено на (Рис. 4).

Данная структура используется в качестве входных данных для обучения выбранной модели YOLO11x-seg. Используемая модель относится к более сложным и точным версиям семейства YOLO и характеризуется увеличенным числом параметров, что должно обеспечивать более высокое качество распознавания объектов.

3.5. Обучение, валидация и тестирование модели нейронной сети на основе архитектуры YOLO

Процесс обучения, валидации и тестирования в «компьютерном зрении», представляет собой строго регламентированную последовательность действий. На первом этапе модель видит только обучающую выборку, и её задача – минимизировать функцию потерь, корректируя веса свёрточных слоёв с помощью алгоритма обратного распространения ошибки. Модель последовательно обрабатывает небольшие порции изображений, вычисляет градиенты и обновляет параметры. Обучение – это итеративный процесс сопоставления данных и метрик на определенной выборке, который отражает способность модели запоминать эти соотношения, присутствующие в тренировочном наборе данных. После каждой эпохи или через определённое количество итераций обученная на данный момент модель прогоняется через валидационный набор данных, который не участвовал в обновлении весов. На этом этапе вычисляются те же метрики, но их динамика служит индикатором обобщающей способности модели.

После того как обучение завершено (то есть валидационные метрики достигли приемлемого уровня) наступает этап тестирования. Тестовая выборка до этого момента хранится в изоляции. Она не используется ни для подбора гиперпараметров, ни для ранней остановки обучения модели. Когда все настройки закончены, модель прогоняется через тестовый набор данных один раз, при этом вычисляются итоговые метрики. Эти значения считаются объективной оценкой качества модели в условиях, приближенных к реальной эксплуатации.

Рис.3. Пример разметки микроводорослей в программе CVAT.

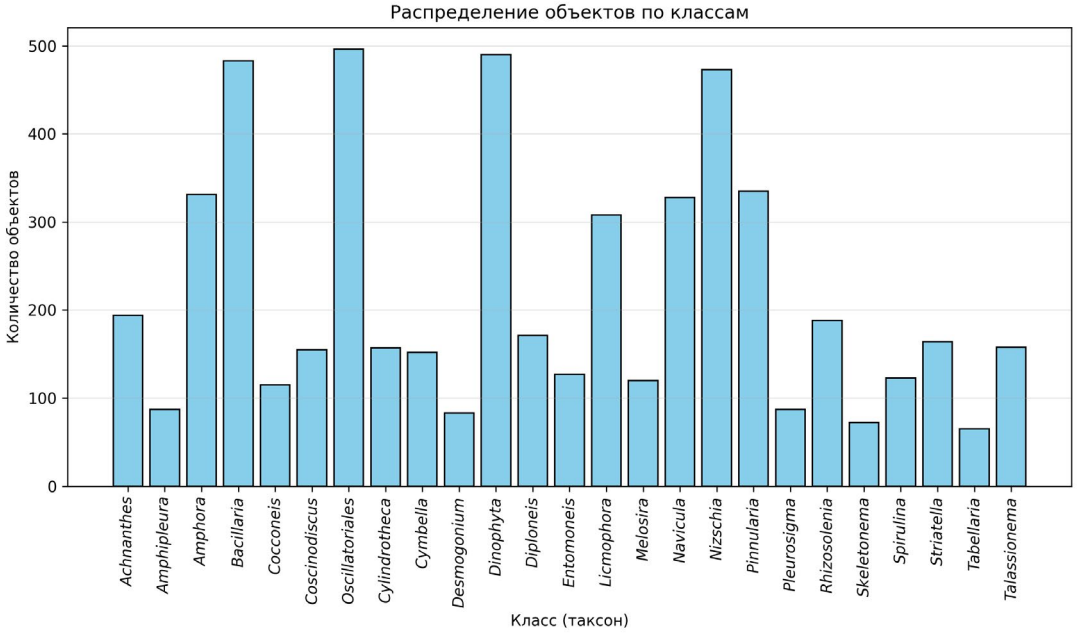


Рис.4. Распределение количества объектов согласно классам таксонов.

В рамках исследования было проведено обучение модели сегментации микроводорослей, позволяющей выделять объекты на уровне пикселей. Обучение выполнялось с использованием архитектуры YOLO11x-seg в режиме сегментации с параметрами: размер входного изображения 640×640 пикселей, количество эпох - 140, при стандартных настройках оптимизации и аугментации данных.

В процессе обучения формируются метрики двух типов: 1) по ограничивающим рамкам (Box) (детекция) и 2) по маскам (Mask) (сегментация). Разделение на (Box) и (Mask) позволяет определить, где именно происходит сбой - модель плохо находит объекты или плохо определяет контуры сегментированных элементов.

В процессе обучения анализируются графики функции потерь на тренировочном и валидационном наборе изображений: Box Loss – ошибка в координатах бокса, Seg Loss – ошибка в пикселях маски, Cls Loss – ошибка в определении класса, DFL Loss – ошибка в регрессии границ (углы, края) (Рис. 5 и 6). Функции потерь (loss functions) – математические выражения, количественно оценивающие, насколько предсказания модели отклоняются от фактических значений.

Оценка ошибок на тренировочном и валидационном наборе изображений служит показателем, по которому определяется состояние обучения модели.

Одной из важных метрик, применяемых для оценки результатов обучения модели «компьютерного зрения» является средняя точность (Mean Average Precision, mAP), которая отражает эффективность обнаружения объектов в виде числа от 0 до 1. Она рассчитывается дважды: 1) отдельно для ограничивающих рамок (Box mAP) и 2) для пиксельных масок (Mask mAP) (Рис. 7). Это позволяет понять, где модель сильнее в обнаружении объектов или в точности выделения их контуров. Обе метрики строятся на основе кривых (точности и полноты) Precision-Recall для каждого класса (Рис. 8).

В результатах модели YOLO использовались два основных варианта:

- mAP@0.5 (более «мягкий» стандарт). Попадание засчитывается, если пересечение предсказания с истиной (IoU – метрика в компьютерном зрении, которая измеряет степень перекрытия между предсказанной областью (например, ограничивающей рамкой (bounding box) или маской сегментации) и истинной областью (ground truth – эталонной разметкой)) больше 50%. Хорошо показывает, умеет ли модель вообще находить объекты;
- mAP@0.5:0.95 (более строгий «золотой стандарт»). Усредняет mAP по 10 порогам IoU от 0.5 до 0.95. Требует от модели идеального совпадения контуров и считается основным показателем для сравнения моделей.

На Рисунке 9 представлены изображения метрики F1 (или F1-мера, F1-score) являющейся средним параметром между точностью (Precision) и полнотой (Recall). Это сбалансированный показатель, который показывает, насколько хорошо модель работает в целом, учитывая оба типа ошибок (ложные срабатывания и пропущенные объекты).

Так как валидационная выборка не участвует в обучении, но она участвует в настройке гиперпараметров (по её метрикам было принято решение остановить обучение (ранняя остановка) на 143 эпохе, было принято решение о выборе размера модели и о применении аугментации) был сделан вывод, что модель хоть и косвенно, но «видела» валидационную выборку. Исходя из этого, всегда используется тестовая выборка, которую модель не «видела». Результаты итоговой оценки на тестовом наборе (860 изображений, 1072 объекта) представлены в Таблице 3.

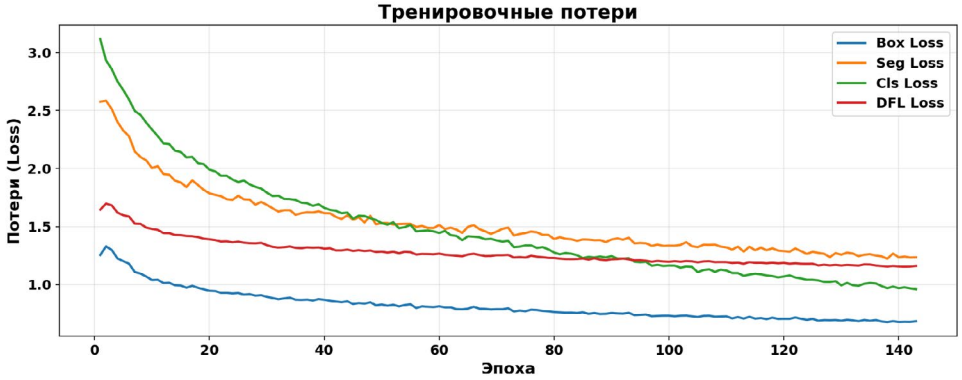


Рис.5. График изменения функций потерь на тренировочном наборе изображений.

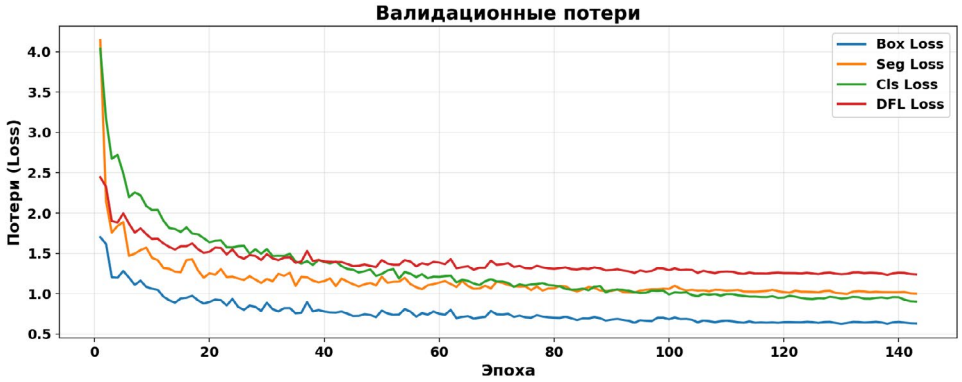


Рис.6. График изменения функций потерь на валидационном наборе изображений.

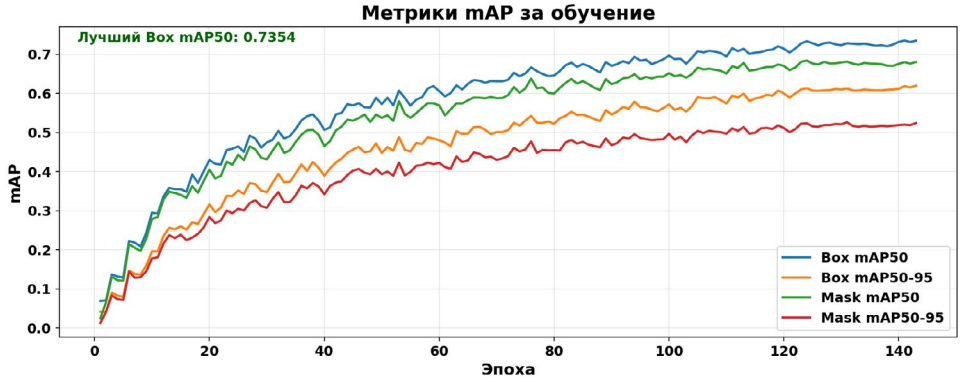


Рис.7. График изменения средних (соответственно 25 классам таксонов) значений mAP в зависимости от эпохи обучения.

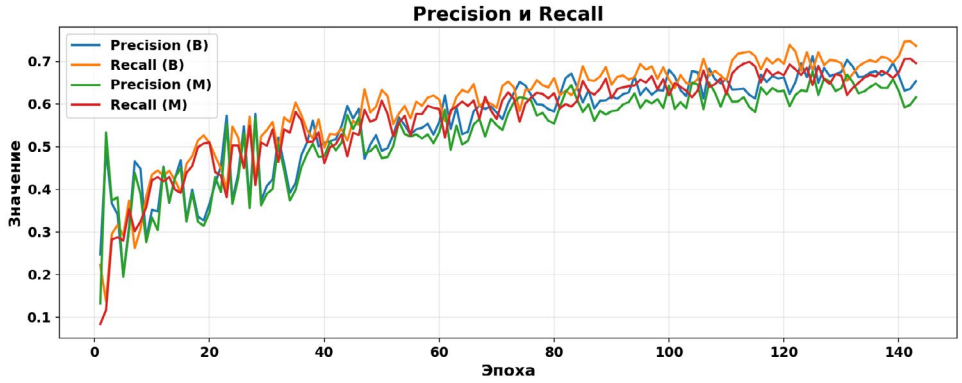


Рис.8. График кривых (точности и полноты) Precision-Recall средних (соответственно 25 классам таксонов) в зависимости от эпохи обучения.

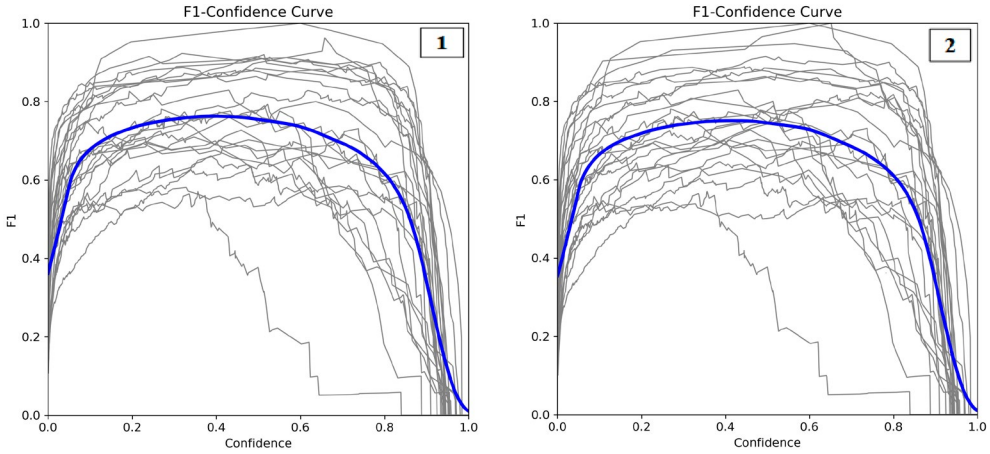


Рис.9. Значение F1, усредненное по всем классам: 1 – для Box (достигает 0.70 при пороге уверенности (confidence) равном 0.342); 2 – для Mask (достигает 0.68 при пороге уверенности (confidence) равном 0.337).

3.6. Апробация модели для оценки экологического состояния исследованного водного объекта

После тестирования модели была выполнена обработка массива микроскопических изображений для оценки качества водного объекта. В качестве исходных данных использовались снимки, полученные в ходе наблюдений за период с 2017 по 2026 гг., однако для дальнейшего анализа были выбраны данные за 2018 год, поскольку, как отмечалось ранее, именно для него имелся полный набор данных без пропусков по месяцам. Также набор отличался фотографиями с наличием многокомпонентных и структурно сложных микроводорослей. Выбор также обоснован необходимостью проверки работоспособности модели на таких сложных примерах.

С целью автоматизации процесса практического применения обученной модели сегментации было разработано веб-приложение на языке Python. Приложение обеспечивает загрузку обученной модели YOLO, выполнение сегментации, обработку результатов и расчёт статистических показателей.

Приложение автоматически рассчитывает количество обработанных изображений, число снимков с обнаруженными объектами и без них, общее количество найденных объектов, среднее число объектов на всех изображениях, распределение по родам, индекс сапробности и время обработки. Для автоматизации расчётов в приложение была предварительно интегрирована Таблица 2. В процессе обработки изображений модель сегментации определяла принадлежность объектов к соответствующим таксонам и подсчитывала количество представителей каждого рода.

Для оценки корректности работы модели были получены изображения с выделенными объектами и их масками (Рис. 10).

Для оценки качества предлагаемой методики совершенствования экологического мониторинга с использованием технологий искусственного интеллекта (компьютерного зрения) был выполнен сравнительный анализ результатов автоматического распознавания микроводорослей с данными, полученными экспертом при ручной обработке тех же изображений. В качестве эталонных данных использовались результаты подсчёта и определения родового состава, выполненные специалистом в процессе микроскопирования.

Сравнение проводилось на основе общего количества обнаруженных объектов по каждому роду за 2018 год. Результаты экспертного подсчёта основных таксонов представлены на (Рис. 2), а данные автоматизированного анализа на (Рис. 11).

Для наглядности был построен сравнительный график распределения количества микроводорослей по родам (Рис. 12), на котором представлены две зависимости (результаты экспертной ручной оценки и автоматизированного подсчета), а также изучен вклад каждого таксона в общий сапробный индекс в зависимости от способа обработки изображений (Рис. 13).

В работе также была проанализирована динамика изменения сапробного индекса в зависимости от сезона года и оценен вклад влияния таксонов с наибольшим ростом количества в определении с применением автоматического подсчета (Рис. 14).

4. Обсуждение

В ходе проведения автоматизированного анализа и последующего сравнения с экспертной оценкой были выявлены расхождения, обусловленные рядом факторов, связанных как с особенностями обучающей выборки, так и со спецификой самих объектов исследования.

Таблица 3. Общие метрики по всем классам по результатам оценки на тестовой выборке.

Тип ограничивающей рамки	Precision	Recall	mAP@0.5	mAP@0.5:0.95
Box (детекция)	0,742	0,793	0,8125	0,6617
Mask (сегментация)	0,739	0,773	0,7909	0,5336

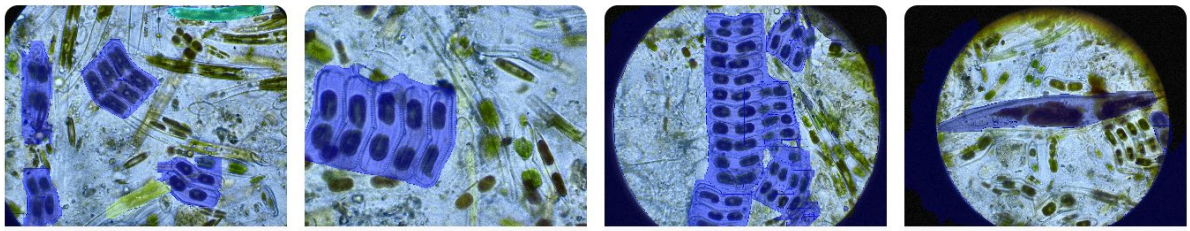


Рис.10. Примеры визуальных результатов работы приложения.

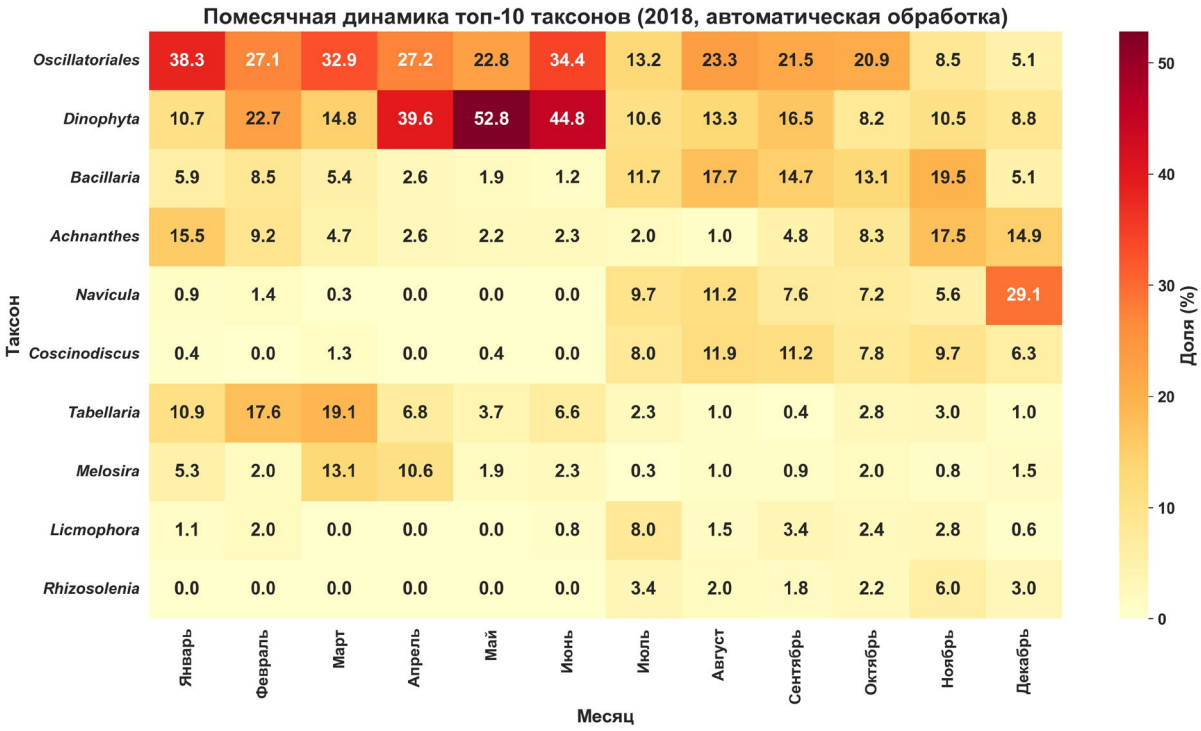


Рис.11. Встречаемость основных десяти типов микроводорослей в образцах перифитона при ежемесячном отборе проб при автоматическом подсчете в 2018 году.

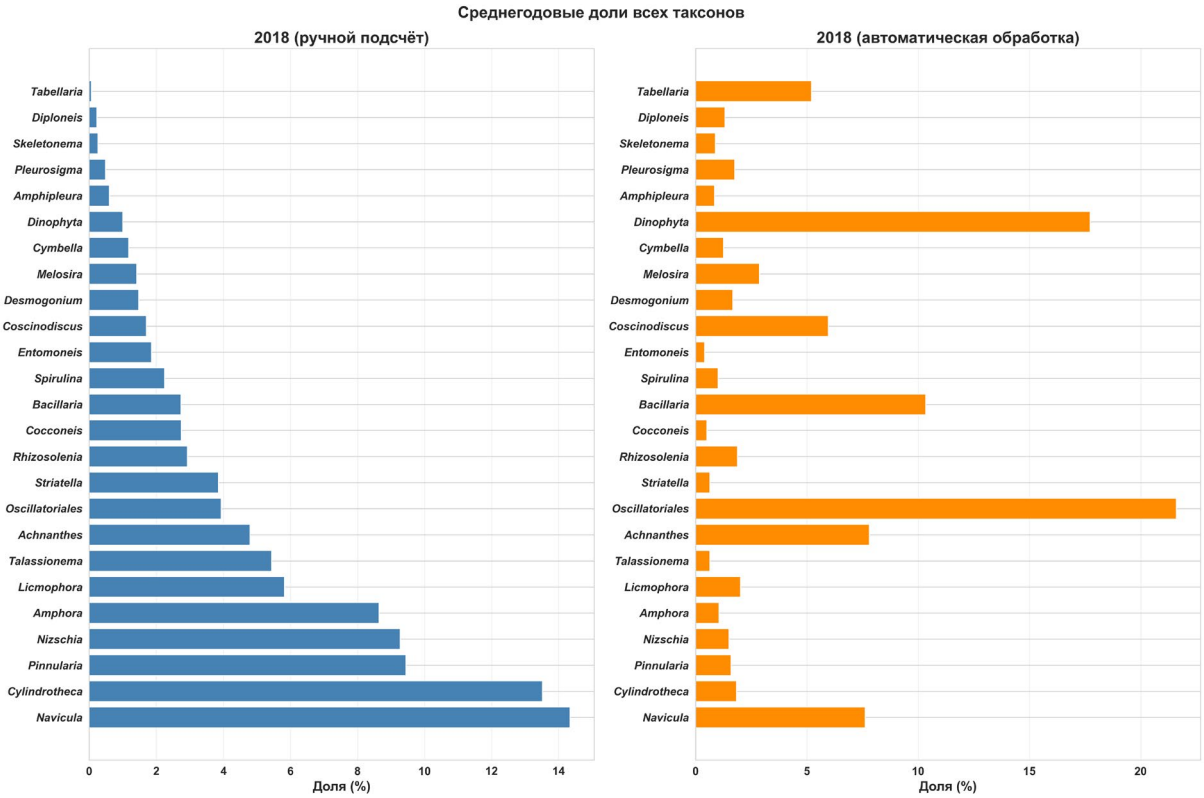


Рис.12. Сравнение среднегодовых долей всех таксонов в зависимости от способа обработки изображений.

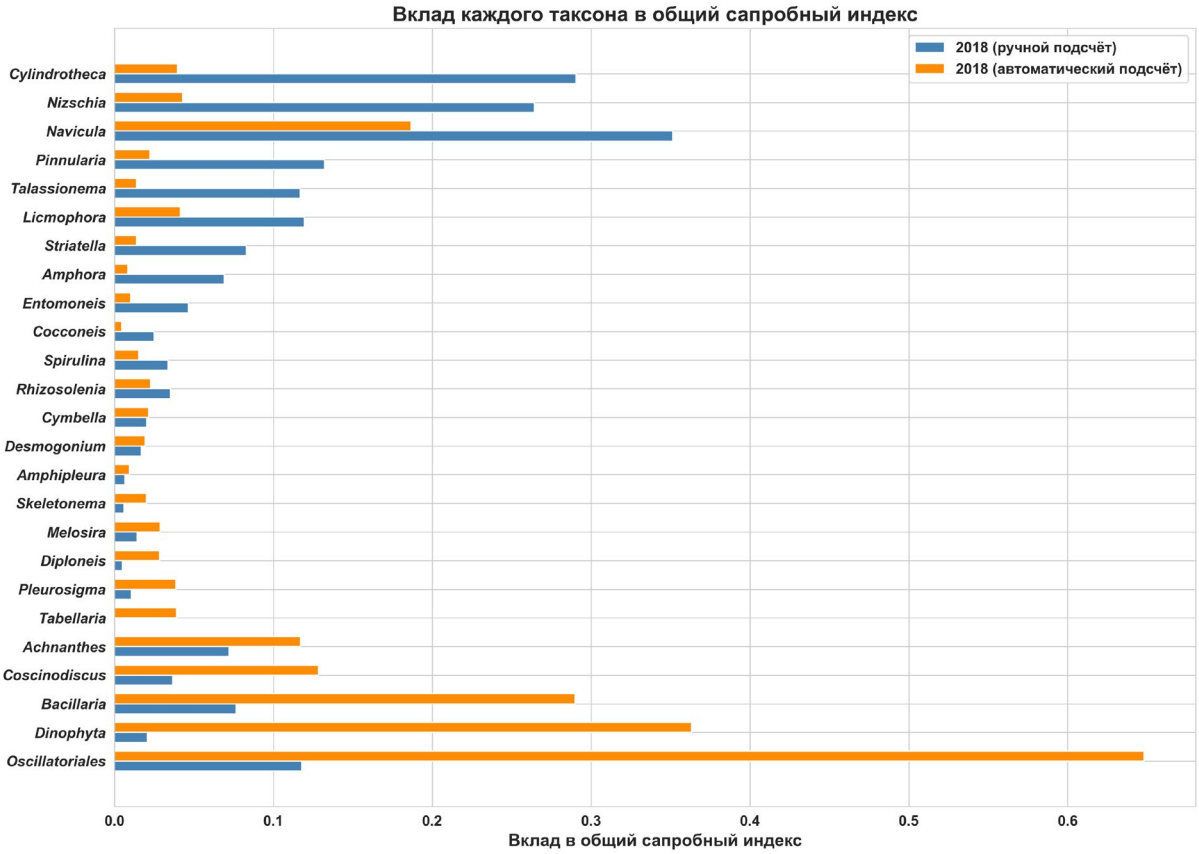


Рис.13. Вклад каждого таксона в общий сапробный индекс в зависимости от способа обработки изображений.

Одной из ключевых причин возникновения ошибок является используемая методика разметки данных. Разметка была выполнена по стандартам, применяемым для типовых объектов компьютерного зрения, что оказалось недостаточным для многокомпонентных и структурно сложных микроводорослей. В результате были выявлены три основных типа ошибок, связанных с данным фактором.

Во-первых, наблюдается морфологическое сходство отдельных родов микроводорослей, что затрудняет их корректное распознавание моделью и приводит к ошибкам классификации. Примерами могут служить рода *Amphipleura* и *Navicula*, *Amphora* и *Diploneis*, *Bacillaria* и *Talassionema*, *Cylindrotheca* и *Rhizosolenia*, *Melosira* и *Skeletonema*, *Striatella* и *Tabellaria* (Рис. 15).

Модель путает эти рода между собой.

Во-вторых, фиксируются ошибки сегментации, проявляющиеся в объединении близко расположенных объектов в одну маску или в избыточном разделении одного объекта на несколько. Данная ошибка возникла из-за не вполне точной и согласованной разметке данных, что влечёт некорректное определение границ объектов.

В-третьих, выявлены ограничения модели при распознавании сложных форм, характерных для ряда таксонов. Несмотря на то, что разметка данных выполнена корректно для типовых объектов, было установлено, что для повышения точности распознавания необходимо учитывать отдельные структурные элементы (например, чехлы, гетероцисты, акинеты, повреждённые клетки), а также использовать специализированные подходы к разметке, ориентированные на особенности микроскопических

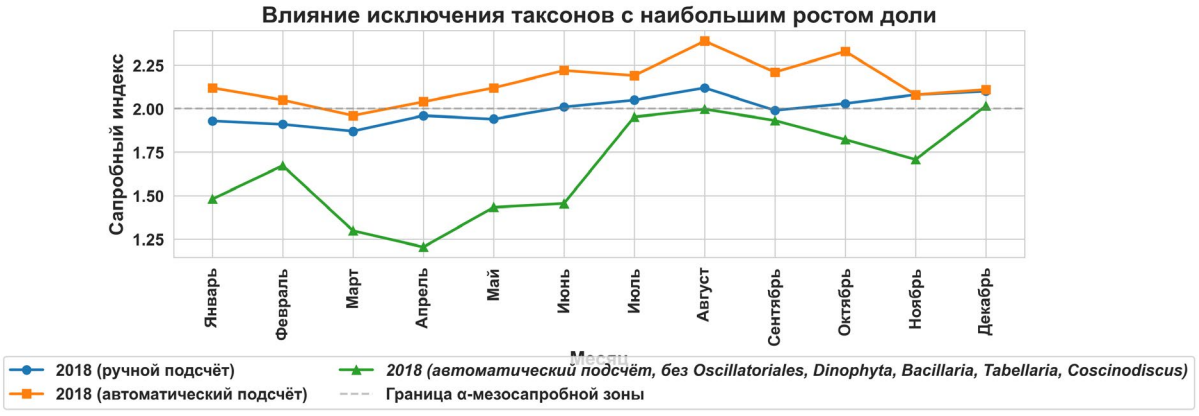


Рис.14. Динамика изменения сапробного индекса в зависимости от способа обработки изображений и рассчитанные с корректировкой за вычетом аномально высоких значений отдельных таксонов.

Рис.15. Примеры родов, сходных по внешним параметрам.

объектов. В дальнейшем, методика разметки будет пересмотрена с учётом выделения дополнительных морфологических классов и более детализированного описания структуры объектов.

В-четвёртых, важным фактором является распределение данных. В силу отсутствия необходимых качественных снимков для разметки датасета выборка получилась неравномерной (Рис. 4 – 4 рода содержат более 400, ещё 4 рода ~300 и в то же время 9 родов ~100 фотографий). Вследствие этого модель демонстрирует более высокую точность для часто встречающихся родов и менее устойчивые результаты для редких таксонов. Это привело к смещению итоговых оценок и повлияло на корректность анализа сапробного индекса и соответственно оценки экологического состояния водного объекта (Рис. 14). Однако, скорректировав расчет значения сапробного индекса за счет вычитания таксонов, показавших аномальный рост в виду несбалансированности обучающей выборки, водный объект можно отнести к условно чистому в течение года.

В-пятых, группа факторов связана с особенностями исходных изображений. В первую очередь – это наличие фоновых элементов (пузырьки, неорганические включения), которые могут восприниматься моделью как части объектов распознавания (Рис. 16). Это указывает на необходимость более тщательной фильтрации данных и, при необходимости, введения отдельного класса «фон» при обучении модели. Дополнительное влияние на распознавание объектов оказывают скученность объектов, качество и чёткость их границ, уровень шумов и контрастность изображений (Рис. 16). При этом следует отметить, что качество исходных фотографий, в целом, является приемлемым для обучения, однако специфика микроскопических объектов требует более строгих требований к визуальным характеристикам данных.

Также существенную роль играет выход границ таксона за пределы фотографии и перекрытие объектов на изображениях, что приводит к игнорированию неполных объектов при определении, так как модель обучалась на цельных фотографиях микроводорослей со сплошной замкнутой границей (Рис. 16).

Полученные результаты показывают, что применение стандартных методов без адаптации к предметной области неизбежно приводит к искажениям, однако одновременно подтверждают принципиальную применимость выбранного подхода. Это позволяет рассматривать выявленные ограничения не как недостатки модели, а как ориентиры для её дальнейшего развития, направленного на переход от формального распознавания к более содержательному анализу структуры и состояния микроводорослей.

5. Выводы

Разработана и апробирована методика автоматизированного распознавания микроводорослей для оценки состояния водной среды.

Используя методы компьютерного зрения была обучена модель сегментации для выделения и классификации объектов на микроскопических изображениях.

Создано веб-приложение, обеспечивающее полный цикл обработки микроскопических изображений.

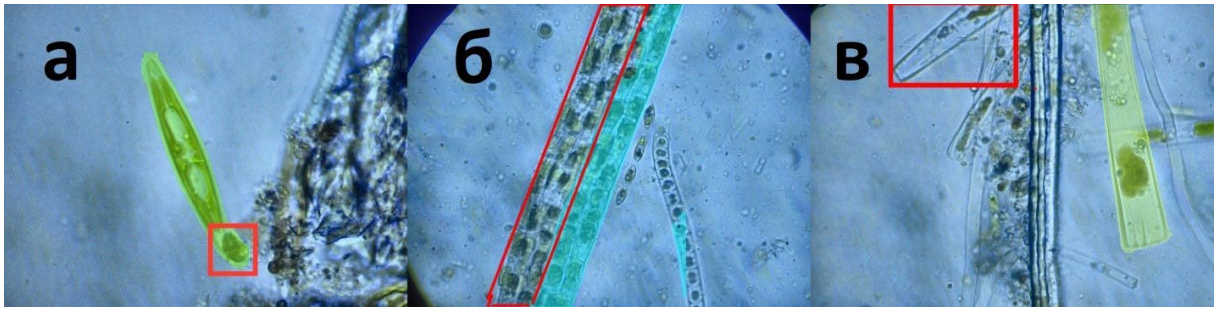


Рис.16. Особенности исходных данных: а – органика; б – четкость и уровень шума; в – перекрытие и выход границ таксона за пределы фотографии.

Предлагаемая методика использует автоматический подсчёт объектов, что позволяет повысить объективность и воспроизводимость результатов.

Сравнение результатов модели с экспертной оценкой показало удовлетворительное совпадение в определении структуры сообществ микроводорослей, несмотря на наличие отдельных количественных расхождений.

Проведённый анализ позволил выявить основные ограничения разработанной модели, связанные со спецификой микроскопических объектов, особенностями разметки и структурой обучающей выборки, при этом установлено, что данные ограничения носят устранимый характер.

Благодарности

Исследование выполнено в рамках государственного задания Института природно-технических систем по теме (№ госрегистрации 124013000609-2) «Фундаментальные и прикладные исследования закономерностей и механизмов формирования региональных изменений природной среды и климата под влиянием глобальных процессов в системе океан-атмосфера» (FFMM-2024-0017)» и договора о сотрудничестве с ФГКВОУ ВПО «Черноморское высшее военно-морское ордена Красной Звезды училище имени П.С. Нахимова».

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

Андреева Н.А. 2015. Микроценозы в морской акватории с повышенной степенью эвтрофикации. Системы контроля окружающей среды 2(22): 111–122.

Баринова С.С. 1996. Атлас водорослей – индикаторов сапробности. Владивосток: Дальнаука.

Васильев М.Е., Шалимов А.С., Савина О.А. 2025. Обзор версий YOLO: одноэтапная модель сверточной нейронной сети. Universum: технические науки 6(135).

Гусляков Н.Е., Закордонец О.А., Герасимюк В.П. 1992. Атлас диатомовых водорослей бентоса северо-западной части Черного моря и прилегающих водоемов. Киев: Наукова думка.

Егоркин А.А., Андреева Н.А. 2026. Совершенствование методики экологического мониторинга водных объектов с применением технологий искусственного интеллекта. В: Современные методы оценки и рационального использования водных биологических ресурсов: Материалы III международной научно-практической конференции (Москва, 17–21 ноября 2025 года, С. 50–53.

Ковтун О.А., Снигирева А.А. 2012. Методические указания по изучению фитомикробентоса и фитоперифитона. Одесса: Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова.

Ступина В.В. 1977. Унифицированные методы исследования качества вод. Ч. 3. Методы биологического анализа вод. Приложение 1. Индикаторы сапробности. М.: Наука.

Holicheva A.A., Kozlov K.S., Boiko D.A. et al. 2025. Deep generative modeling of annotated bacterial biofilm images. npj Biofilms and Microbiomes 11: 16. DOI: 10.1038/s41522-025-00647-4

Komárek J., Anagnostidis K. 1998. Cyanoprokaryota 1. Chroococcales. In: Ettl H., Gärtner G., Heynig H., Mollenhauer D. (eds.). Süsswasserflora von Mitteleuropa 19/1. Jena: Gustav Fischer.

Komárek J., Anagnostidis K. 2005. Cyanoprokaryota 2. Oscillatoriales. In: Büdel B., Krienitz L., Gärtner G., Schagerl M. (eds.) Süsswasserflora von Mitteleuropa 19/2. Heidelberg: Elsevier/Spektrum.

Pawłowski J., Majchrowska S., Golan T. 2022. Generation of microbial colonies dataset with deep learning style transfer. Scientific Reports 12: 5212. DOI: 10.1038/s41598-022-09264-z

Spahn C., Gómez-de-Mariscal E., Laine R.F. et al. 2022. DeepBacs for multi-task bacterial image analysis using open-source deep learning approaches. Communications Biology 5: 688. DOI: 10.1038/s42003-022-03634-z

Original Article

Metagenome-assembled genomes of non-axenic cyanobacteria: taxonomy, functional potential, and selection of promising strains for agrobiotechnologies

Temraleeva A.D.[1]*, Arefieva N.A.[2], Kamenev A.O.[3], Didovich S.V.[3]

[1] *G.K. Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms, Russian Academy of Sciences, Federal Research Center "Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences", Prospekt Nauki 5, Pushchino, 142290, Russia*
[2] *Irkutsk State Medical University, Krasnogo Vosstaniya Str. 2, Irkutsk, 664003, Russia*
[3] *Research Institute of Agriculture of Crimea, Kievskaya Str. 150, Simferopol, 295043, Russia*

ABSTRACT. The search for novel highly effective microbial strains and the engineering of polyfunctional microbial inoculants based on them represents a key vector in the development of modern agrobiotechnologies. In this study, a comprehensive taxonomic and functional characterization of nine non-axenic strains of soil filamentous cyanobacteria belonging to the order Nostocales was conducted using metagenomic whole-genome sequencing. The assembly of metagenome-assembled genomes (MAGs) allowed for the reconstruction of high-quality genomic sequences of the target taxon, bypassing the labor-intensive step of strain axenization. According to the phylogenomic analysis, the studied cultures occupy a distinct position on the phylogenetic tree and can be considered candidates for novel taxa; however, this requires further verification as the current shortage of reference genomes for soil cyanobacteria is overcome. Based on ribosomal marker genes, the composition of the accompanying satellite microbiota localized within the exopolysaccharide sheaths of the hosts was characterized. The presence of beneficial heterotrophic bacteria from the genera *Devosia*, *Lysobacter*, *Brevundimonas*, *Variovorax*, *Bosea*, *Achromobacter*, and *Pseudoflavitalea*, which possess pronounced plant growth-promoting and biocontrol potential, was verified. Functional genome annotation revealed that all strains harbor a complete nitrogen fixation gene cluster and well-developed phosphorus mobilization systems. The strain *Nostoc* sp. VKM Al-56 was distinguished by a unique iron metabolism apparatus, whereas *Nostoc edaphicum* VKM Al-156 stood out for its aromatic compound degradation pathways. An integrated analysis considering taxonomic and biogeographic diversity, as well as the presence of key agronomically valuable traits (the capacity for phytohormone synthesis, nitrogen fixation, phosphate mobilization, pathogen defense, and abiotic stress tolerance), allowed for the selection of three candidate strains for further applied research on the development of biological formulations for crop production: *Nostoc* sp. VKM Al-115, *Hassallia pseudoramosissima* VKM Al-158, and *Anabaena pirinica* VKM Al-153.

Keywords: cyanobacteria, Nostocales, metagenome-assembled genomes, synthetic microbial communities, agrobiotechnology

For citation: Temraleeva A.D., Arefieva N.A., Kamenev A.O., Didovich S.V. Metagenome-assembled genomes of non-axenic cyanobacteria: taxonomy, functional potential, and selection of promising strains for agrobiotechnologies // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - P. 283-309. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-283

1. Introduction

The search for novel microbial strains to develop effective biological formulations is a key factor in ensuring food security. Global population is projected to reach 9.6 billion people by 2050, which will necessitate at least a 50% increase in annual grain production (Singh et al., 2016). Given the exhaustion of arable land reserves, the sole viable strategy remains the intensification of agriculture. However, the current model, heavily reliant on synthetic fertilizers and pesticides, leads to soil fertility degradation, ecosystem contamination, and rising production costs. As an alternative or supplement to chemical agronomy, agricultural biologicalization is actively expanding. In this domain, cyanobacteria occupy a prominent place as phototro-

*Corresponding author. E-mail address: temraleeva.anna@gmail.com (A.D. Temraleeva)

Received: July 02, 2026;
Accepted after revised: August 01, 2026;
Available online: August 28, 2026

© Author(s) 2026. This work is distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

phs possessing a unique suite of agronomically valuable functions, including nitrogen fixation, phosphate mobilization, and the synthesis of phytohormones and exopolysaccharides (EPS) (Whitton and Potts, 2012; Sharma et al., 2013; Temraleeva et al., 2025). More than two thousand of their secondary metabolites with pronounced antibacterial and fungicidal activities are known (Li et al., 2017; Jones et al., 2021; Abo-Shady et al., 2023), while their polysaccharide matrices form a hydrogel network that ensures soil structural integrity and mediates metabolic dialogue with the rhizosphere (Costa et al., 2018). The current vector in agrobiotechnology is shifting from low-efficiency single-strain cultures toward the engineering of multifunctional synthetic microbial communities (SynComs) (Shayanthan et al., 2022). In such systems, cyanobacteria of the genera *Nostoc* and *Anabaena* serve as a phototrophic backbone, establishing a niche for satellite heterotrophic bacteria that promote plant growth. This interaction triggers a cascading activation of soil enzymes and enhances suppressiveness against pathogens (Santos-Merino et al., 2019; Yanti et al., 2021; Krishnan et al., 2025). This is particularly important because the efficiency of traditional mineral fertilizer uptake does not exceed 30–50%, and only comprehensive microbial action is capable of unlocking the full trophic potential of agroecosystems (Chen et al., 2025). However, the acute shortage of regional reference genomes remains a key limiting factor for the implementation of these technologies (Kouidhi et al., 2025). Pure cultures cover less than 10% of global prokaryotic diversity (Wu et al., 2025), and the efficacy of inoculants often decreases when transferred from the laboratory to the field due to a lack of adaptation to local soil and climatic conditions. The solution to this problem lies in the transition to metagenomic sequencing and metagenome-assembled genome (MAG) assembly – genomic sequences reconstructed from metagenomic data by clustering contigs belonging to a single taxon using binning algorithms. This approach is particularly relevant for cyanobacteria, since obtaining axenic cultures is an extremely complex and labor-intensive task due to tight metabolic connections with the accompanying microbiota and slow growth compared to contaminating heterotrophic bacteria. Metagenomic sequencing of non-axenic strains circumvents the axenization stage and directly reconstructs the genomes of target strains, opening up the opportunity not only to discover novel taxa but also to predict their functional potential *in silico*. Moreover, a non-axenic cyanobacterial culture with its natural bacterial environment can be considered a simplified model of a SynCom, wherein the phototrophic host and satellite heterotrophs exist in metabolic interaction. Investigating the genomic composition of such an association allows for the simultaneous characterization of the cyanobacterial strain and the identification of potential partners for engineering artificial microbial consortia with targeted agronomic properties. In this regard, the discovery and genomic profiling of promising autochthonous cyanobacterial strains becomes a primary task for the development of stable and highly effective next-generation biological formulations.

The **aim** of this study was to perform a comprehensive genomic characterization of nine non-axenic cyanobacterial strains of the order Nostocales from the All-Russian Collection of Microorganisms (VKM) using a MAG approach, including their taxonomic identification, functional profiling, and identification of genetic determinants promising for agrobiotechnological applications, as well as characterization of the satellite microbiota composition. Although metagenomic assembly of cyanobacterial genomes has been employed in several studies, such an approach – integrated with the analysis of satellite microbiota – has not been previously applied to soil cyanobacterial strains from Russian microorganism collections. The novelty of our study lies in the comprehensive analysis of non-axenic cultures as natural prototypes of synthetic microbial consortia, enabling the simultaneous characterization of the target phototrophic strain and the identification of associated PGPB strains with promising potential for biopesticide and biofertilizer formulation.

2. Materials and methods

2.1. Objects of study

The objects of study were 9 strains of soil cyanobacteria obtained from the All-Russian Collection of Microorganisms (VKM; G.K. Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms, Russian Academy of Sciences, Federal Research Center "Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences", Pushchino). All strains belong to the order Nostocales: *Anabaena pirinica* VKM Al-153 (isolated from meadow soil, Volgograd region), *Nostoc commune* VKM Al-35 (isolated from solonetz, Volgograd region), *Nostoc punctiforme* VKM Al-37 (isolated from solonetz, Volgograd region), *Nostoc* sp. VKM Al-56 (isolated from grey forest soil, Moscow region), Nostoc sp. VKM Al-115 (isolated from grey forest soil, Tula region), *Nostoc edaphicum* VKM Al-156 (isolated from brown semi-desert soil, Republic of Kalmykia), *Hassallia pseudoramosissima* VKM Al-158 (isolated from brown semi-desert soil, Republic of Kalmykia), *Nostoc minutum* VKM Al-168 (isolated from chestnut soil, Volgograd region), and *Nostoc* sp. VKM Al-310 (isolated from fallow land, Stavropol Krai). The investigated strains were non-axenic and contained an accompanying bacterial microbiota. Microscopy and photodocumentation of the strain morphology were performed using a Leica DM750 microscope equipped with a Flexacam C3 digital camera (Leica Microsystems, Germany). Morphological identification was performed using the taxonomic key for heterocytous cyanobacteria (Komárek, 2013).

2.2. DNA extraction, high-throughput sequencing, and quality control

DNA library preparation (enzymatic fragmentation, adapter ligation, and amplification) was performed using the VAHTS Universal Plus DNA Library Prep Kit for Illumina V2 (Vazyme, China) accord-

ing to the manufacturer's protocol. Library quality was monitored on a Qsep400 system using the High Sensitivity Cartridge Kit (BiOptic, Taiwan) and a Qubit 4 fluorometer using the Spectra Q HS kit (Raissol Bio, Russia). High-throughput sequencing (PE150) was conducted on the SURFSeq5000 platform (GeneMind, China) at Medgen LLC (Russia). Raw read quality was evaluated using FastQC v0.11.9 (assessing Q-score, GC content, adapter contamination, and duplication levels). Trimming and adapter removal were performed via Trimmomatic v0.39 using the SURFseq adapter sequences provided by Medgen with the following parameters: ILLUMINACLIP:SURFseq_adapters.fa:2:30:10, AVGQUAL:25, MINLEN:75. Due to the non-axenic nature of the cyanobacterial strains, sequencing was executed in a deep metagenomic sequencing mode.

2.3. Genome assembly, quality assessment, and decontamination

To eliminate signals from potential contamination stemming from the non-axenic nature of the cyanobacterial strains, a multi-step bioinformatic data filtration approach was applied. *De novo* metagenomic assembly of deep sequencing reads was performed using SPAdes v3.15.5 (Bankevich et al., 2012) with the --meta option and automatic k-mer selection (--k auto). Contigs shorter than 1000 bp were removed using seqkit v2.9.0. For taxonomic purification and isolation of the target cyanobacterial genomes from the associated satellite microbiota, automated binning was carried out using MaxBin2 v2.2.7 (Wu et al., 2016). Potential non-cyanobacterial contamination within the obtained bins was further identified and discarded using Kraken2 (Wood et al., 2019) against the PlusPFP database. At the final stage, the completeness and contamination levels of the assembled genomes were verified using CheckM2 v1.1.0 (Chklovski et al., 2023). For subsequent functional profiling and gene cluster biosynthesis (BGC) annotation, only high-quality bins confidently assigned to the target cyanobacterial taxa – characterized by completeness >98% and contamination <4.5% – were retained. General assembly metrics (N50, total genome size, and contig count) were evaluated using QUAST v5.2.0 (Gurevich et al., 2013).

2.4. Identification and taxonomic analysis of rRNA genes

The identification of regions encoding the large (23S) and small (16S) subunit ribosomal RNA genes within the MAGs was performed by aligning the genomic assembly contigs against the full-length SILVA ribosomal gene database (Quast et al., 2013) using the BLASTn pairwise alignment algorithm (Altschul et al., 1990). BLASTn was executed with the following parameters: -word_size 12 -gapopen 2 -gapextend 1 -reward 1 -penalty -1 -evalue 0.00001. For taxonomic identification based on the 16S rRNA gene, an identity threshold of ≥90% was applied (Hackmann, 2025), while a threshold of ≥89% was used for the 23S rRNA gene based on data from closely related taxa (Zimenkov and Ushtanit, 2025). Sequences with values below the specified thresholds were excluded from further analysis as low-quality. The risk of including chimeric ribosomal artifacts in the final analysis was minimized due to a multi-stage decontamination procedure (MaxBin2 and Kraken2), where rRNA genes were analyzed strictly within isolated and verified high-quality bins (MAGs), thereby excluding cross-reads from other taxa. The taxonomic assignment of the detected sequences was determined according to the SILVA database classification framework.

2.5. Phylogenomic analysis

The taxonomic identification and phylogenetic positioning of the studied strains were determined using the Type (Strain) Genome Server (TYGS) online platform (https://tygs.dsmz.de/) (Meier-Kolthoff and Göker, 2019; Meier-Kolthoff et al., 2022; Freese et al., 2025). The genome sequences were uploaded to the server and automatically compared against the genomes of type and reference strains available in the up-to-date TYGS database, as well as pairwise against each other. The closest related strains were identified using the MASH algorithm for rapid intergenomic distance estimation, as well as via analysis of 16S rRNA gene sequences extracted from the studied genomes using RNAmmer (Lagesen and Hallin, 2007), followed by a BLAST search (Camacho et al., 2009) against the TYGS type strain database. Based on the intergenomic distances calculated using Genome BLAST Distance Phylogeny (GBDP) (Meier-Kolthoff et al., 2013) with the 'trimming' algorithm and formula d5, a phylogenomic tree was constructed using FastME 2.1.6 (Lefort et al., 2015) with 100 pseudo-bootstrap replicates; pseudo-bootstrap support values were displayed at the nodes. The genomes of *Gloeocapsopsis dulcis* AAB1 and *Chroogloeocystis siderophila* 5.2 s.c.1, belonging to distant taxa within the class Cyanophyceae, were used as an outgroup to ensure correct rooting of the phylogenetic tree. Tree visualization was performed using the iTOL platform (Letunic and Bork, 2021).

2.6. Functional annotation

Functional genome annotation was performed using two independent approaches. In the first pipeline, open reading frames (ORFs) were predicted using Prokka v1.14.5 (Seemann, 2014), after which protein functional assignment was conducted via Hidden Markov Model (HMM) profiles using the KofamScan v1.3.0 utility based on the KEGG database (Release 116.0) (Aramaki et al., 2020). Genomic mapping and metabolic pathway reconstruction were executed within the KEGG PATHWAY framework (Kanehisa et al., 2023). In the second pipeline, genomes were annotated using the RASTtk algorithm with default parameters on the RAST online server (October 2025 version) (https://rast.nmpdr.org/) (Aziz et al., 2008; Brettin et al., 2015). Functional categorization followed the SEED subsystems classification framework (Overbeek et al., 2014).

2.7. Data visualization

Data visualization was performed within the R environment using the *ggplot2*, *tidyr*, *dplyr*, *stringr*, *networkD3*, *htmlwidgets*, and *webshot2* packages. Based on the 16S and 23S rRNA gene analysis data, presence/absence heatmaps of the satellite microbiota taxa were constructed, including sequence identity percentages. Taxon distribution across phylogenetic levels (phylum -> class) was displayed using Sankey diagrams. For the comparative analysis of genomic functional profiles across agronomically significant KEGG categories, a heatmap was generated illustrating the gene counts within each category.

3. Results

3.1. Morphological characterization and ecological-geographic diversity of the strains

Morphologically, all investigated strains exhibited a diversity of morphotypes characteristic of representatives of the order Nostocales (Komárek, 2013). *A. pirinica* VKM Al-153 formed straight or slightly curved trichomes surrounded by a wide (up to 12 μm) mucilaginous layer, with barrel-shaped vegetative cells (3.3-4.2 μm wide), ellipsoidal akinetes (12–17.2 × up to 8.2 μm), and intercalary heterocytes (4.3–5.3 μm). Strains of the genus *Nostoc* were characterized by the presence of dense colonies of various shapes (ranging from spherical to vermiform), colorless mucilaginous sheaths, and barrel-shaped or spherical vegetative cells. The dimensions of the vegetative cells varied depending on the strain, ranging from 2.6–3.4 μm in *Nostoc* sp. VKM Al-310 to 3.3–4.3 μm in *N. commune* VKM Al-35. Akinetes, where observed, were predominantly spherical or ellipsoidal, with diameters ranging from 4.6 to 7.7 μm, except for *A. pirinica* VKM Al-153, whose akinetes reached up to 17.2 μm in length. Heterocytes were located either intercalarily or terminally and exhibited spherical, ellipsoidal, or conical shapes with diameters of 3.4–6.1 μm. *Hassallia pseudoramosissima* VKM Al-158 was distinguished by bushy colonies and falsely branched filaments up to 9.4 μm wide with a robust, stratified sheath; its heterocytes were large, measuring up to 10.5 μm in width and 20–30 μm in length. All strains reproduced vegetatively (via fragmentation of filaments or colonies), as well as through hormogonia and akinetes. Micrographs of the strains are presented in Fig. 1.

The studied strains were isolated from soil samples collected across five regions of the European part of the Russian Federation and represent a wide spectrum of soil and ecological conditions: ranging from meadow and grey forest soils of Central Russia to solonetz, chestnut, and brown semi-desert soils of the southern regions.

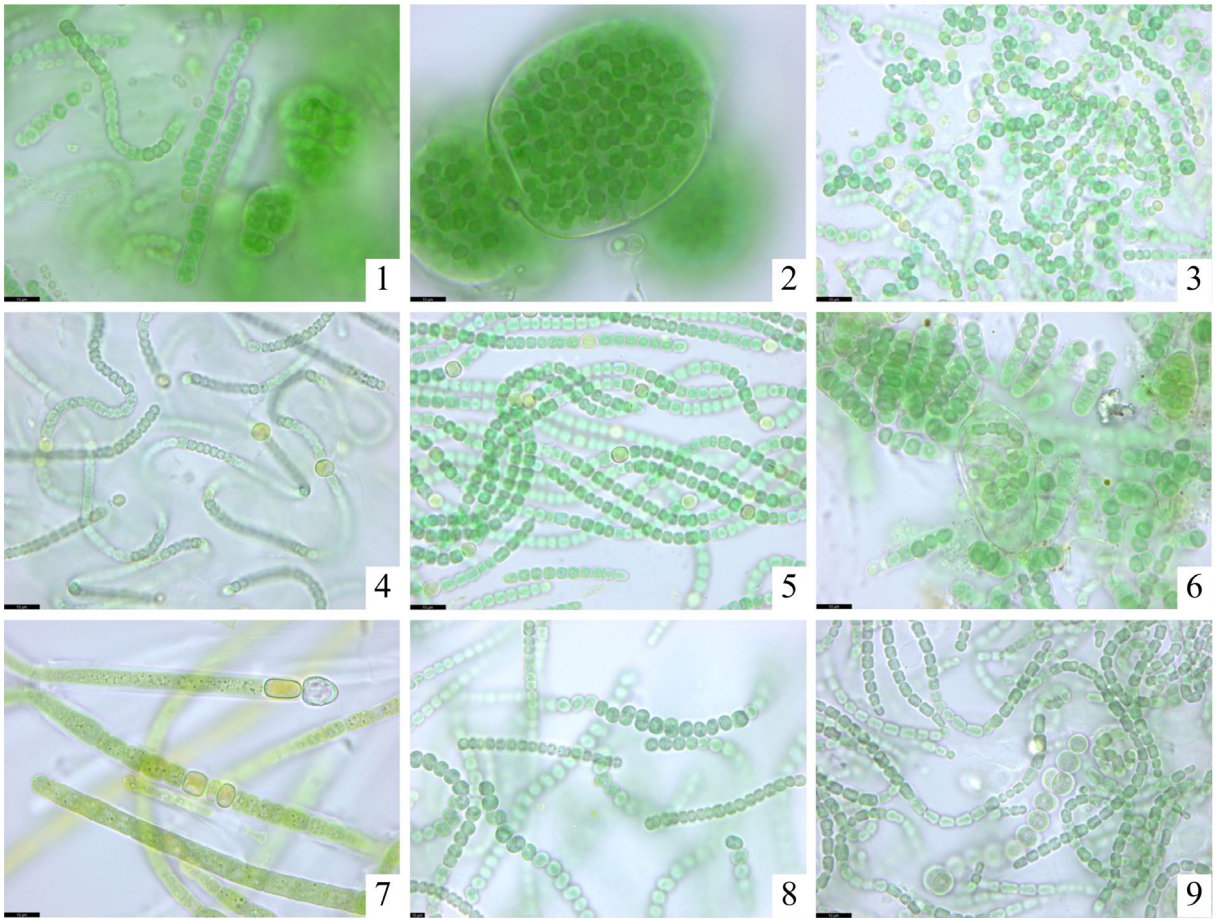


Fig.1. Micrographs of the investigated cyanobacterial strains. 1 – *Nostoc commune* VKM Al-35, 2 – *Nostoc punctiforme* VKM Al-37, 3 – *Nostoc* sp. VKM Al-56, 4 – *Nostoc* sp. VKM Al-115, 5 – *Anabaena pirinica* VKM Al-153, 6 – *Nostoc edaphicum* VKM Al-156, 7 – *Hassallia pseudoramosissima* VKM Al-158, 8 – *Nostoc minutum* VKM Al-168, 9 – *Nostoc* sp. VKM Al-310. Scale bar: 10 μm.

3.2. Sequencing quality, assembly, and characterization of MAGs

As a result of deep metagenomic sequencing of the nine non-axenic cyanobacterial strains, between 16.1 and 23.6 million paired-end reads per strain were obtained, corresponding to 2.4–3.5 Gb of raw data (Table 1).

Low-quality reads were absent across all strains, demonstrating the high quality of the initial raw data. The average GC content ranged from 40% to 46% for most strains. The high GC content (65%) in the raw data of strain VKM Al-310 (Table 1), which contrasts with the other cyanobacterial strains, reflects the GC composition of the entire metagenomic dataset, including the dominant satellite microbiota. After filtering and extracting the target MAG, the GC content of this strain was 41% (Table 2), which corresponds to typical values for members of the order Nostocales. The read duplication rate varied from 32.5% (*Nostoc* sp. VKM Al-156) to 51.7% (*Nostoc* sp. VKM Al-310). Following bioinformatic filtration and decontamination, high-quality metagenome-assembled genomes (MAGs) were successfully recovered for each strain (Table 2).

The completeness of the assembled genomes varied from 98.29% (*N. commune* VKM Al-35) to 100% (*Nostoc* sp. VKM Al-115 and *N. minutum* VKM Al-168), while the contamination level did not exceed 4.52% (averaging $<1\%$), which meets the criteria for high-quality MAGs. Genome sizes ranged from 6.32 Mb (*A. pirinica* VKM Al-153) to 9.36 Mb (*N. minutum* VKM Al-168), which falls within the range characteristic of representatives of the order Nostocales. The genomic GC content varied from 40% to 42%, with the exception of VKM Al-310 (41%). The number of predicted coding sequences (CDS) ranged from 5477 (*A. pirinica* VKM Al-153) to 8268 (*N. minutum* VKM Al-168). Gene density varied from 0.787 to 0.824 genes per kilobase. The number of contigs in the assemblies fluctuated from 83 (*A. pirinica* VKM Al-153) to 461 (*Nostoc* sp. VKM Al-310), while the N50 metric, reflecting assembly contiguity, ranged from 46.892 to 126.872 bp, and the maximum contig length reached 421.132 bp (*N. punctiforme* VKM Al-37). Thus, all recovered MAGs met the high-quality draft standard (completeness $>98\%$, contamination $<5\%$) and are suitable for subsequent functional profiling and taxonomic identification (Bowers et al., 2017).

3.3. Phylogenomic analysis

According to the results of the TYGS identification pipeline, all nine strains were characterized as potentially novel species that could be considered candidates for new taxa; however, this requires further verification incorporating morphological, physiological, and ecological data, as well as the accumulation of soil cyanobacterial genomes in reference databases. Based on the intergenomic GBDP distances, a phylogenomic tree was constructed (Fig. 2) with an average branch pseudo-bootstrap support of 89.2%, demonstrating the high reliability of the tree topology.

Analysis of the phylogenomic tree revealed that strains *N. edaphicum* VKM Al-156 and *H. pseudoramosissima* VKM Al-158 form a well-supported common clade, indicating their close phylogenetic relationship. Strains *N. commune* VKM Al-35, *N. punctiforme* VKM Al-37, *Nostoc* sp. VKM Al-115, and *N. minutum* VKM Al-168 group into a single clade, whereas *Nostoc* sp. VKM Al-56, *A. pirinica* VKM Al-153, and *Nostoc* sp. VKM Al-310 occupy distinct, isolated positions.

3.4. Composition of satellite microbiota in non-axenic cyanobacterial strains

Analysis of the 16S and 23S rRNA genes identified within the metagenomic assemblies of non-axenic cyanobacterial cultures allowed for the characterization of the taxonomic composition of the accompanying bacterial microbiota (Fig. 3, 4). After filtering out sequences with identity levels below the established thresholds ($\geq 90\%$ for 16S rRNA, $\geq 89\%$ for 23S rRNA), satellite bacteria belonging to the phyla Pseudomonadota (classes Alphaproteobacteria and Gammaproteobacteria) and Bacteroidota (class Bacteroidia) were detected across the investigated strains. The distribution of satellite phyla among host strains was uneven. The most diverse composition of associated bacteria was observed for *N. edaphicum* VKM Al-156, which, according to the 23S rRNA data, harbored representatives of three genera from the phylum Pseudomonadota. The strain *A. pirinica* VKM Al-153 was associated with two phyla: Pseudomonadota and Bacteroidota. Strains VKM Al-56 and VKM Al-310 contained representatives of the phylum Pseudomonadota. Strains VKM Al-35, VKM Al-37, VKM Al-115, VKM Al-168, and VKM Al-158 harbored no satellite taxa identified by marker genes with reliable identity levels.

Table 1. Quality metrics of raw sequencing data.

VKM Strain ID	Total Reads	Total Bases (Gb)	Low-Quality Reads	Average GC Content (%)	Duplication Rate (%)
35	23611455	3.5	0	41	46.7
37	21004509	3.1	0	41	45.4
56	19426989	2.9	0	41	45.4
115	19849606	2.9	0	41	46.7
153	18882848	2.8	0	40	35.6
156	18508027	2.7	0	46	32.5
158	17991330	2.6	0	41	44
168	19855856	2.9	0	41	41.4
310	16122818	2.4	0	65	51.7

Table 2. Genome assembly quality metrics after binning and decontamination.

VKM Strain ID	Completeness (%)	Contamination (%)	Genome Size, Mb	GC, %	Number of CDS	Gene Density (genes/Kb)	Number of Contigs	N50 (bp)	Max Contig Length (bp)
35	98.29	4.52	8.79	42	7695	0.803	175	122592	349144
37	99.99	0.5	8.37	42	7386	0.803	224	92142	421132
56	99.97	0.19	6.90	41	5949	0.822	121	116923	360614
115	100	0.12	9.17	41	7862	0.812	248	78921	250931
153	99.95	0.5	6.32	40	5477	0.824	83	126872	357633
156	99.98	0.95	7.74	42	6869	0.795	176	81748	403056
158	99.86	0.35	7.41	42	6869	0.792	325	46892	171368
168	100	0.6	9.36	42	8268	0.813	311	77873	314191
310	99.99	0.5	8.21	41	7233	0.787	461	50634	197625

Note. CDS – coding sequence.

To quantify the proportion of the satellite microbiota, a genome-size-weighted approach was applied based on the sequence coverage depth and genome sizes of all bins obtained from the binning process. The calculation revealed that satellite bins were not detected in three strains (VKM Al-35, VKM Al-37, and VKM Al-115), with their share remaining below 0.5%. In the strains with identified satellite microbiota, its proportion ranged from 2.04% (VKM Al-56) to 95.94% (VKM Al-310). Specifically, the satellite bacterium dominated the culture in strain VKM Al-158 (90.84%), while its share reached 29.59% and 26.21% in VKM Al-156 and VKM Al-153, respectively, and 11.19% in VKM Al-168.

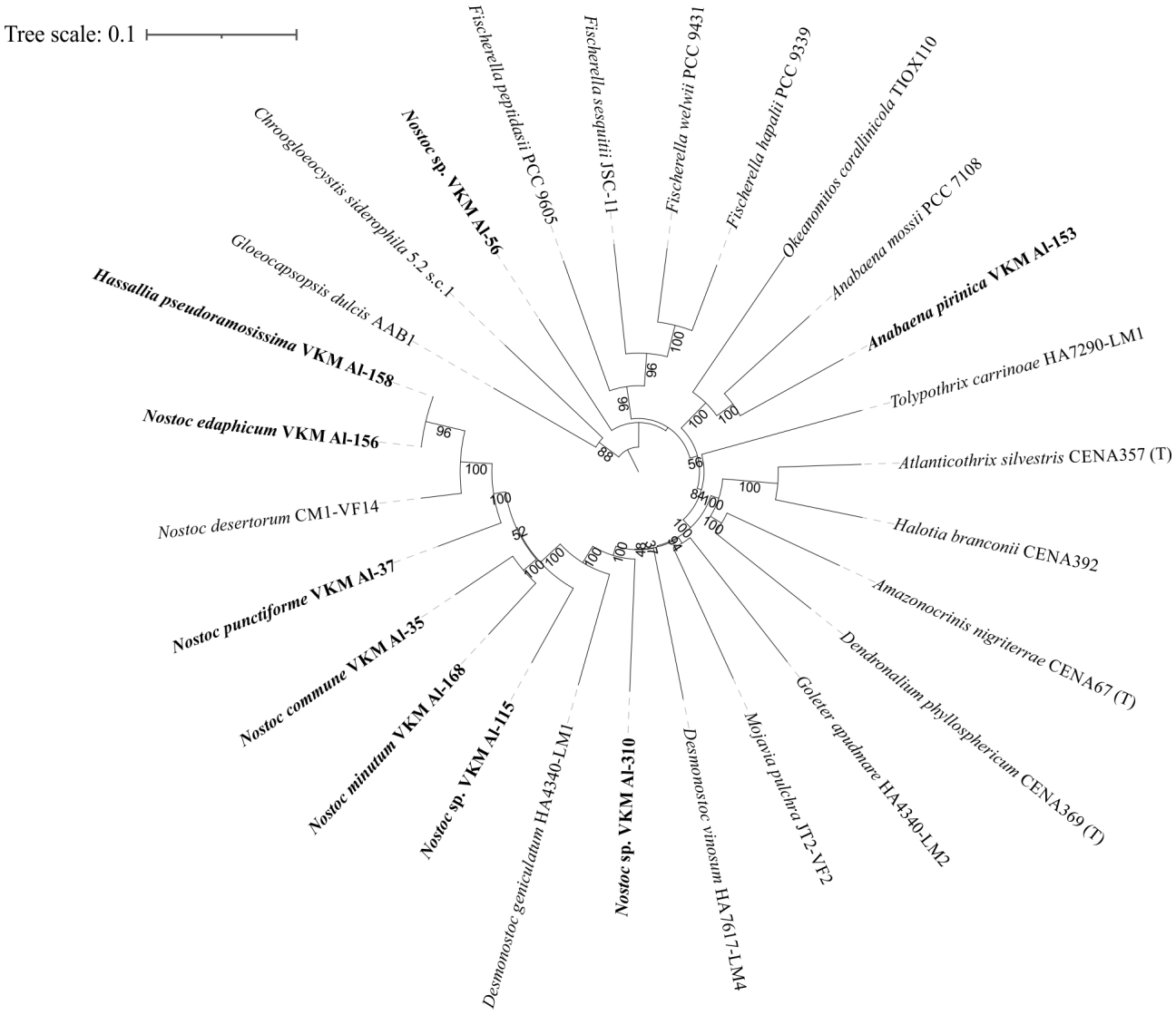


Fig.2. Phylogenomic tree of the investigated cyanobacterial strains constructed using TYGS data. Note. VKM strains are highlighted in bold.

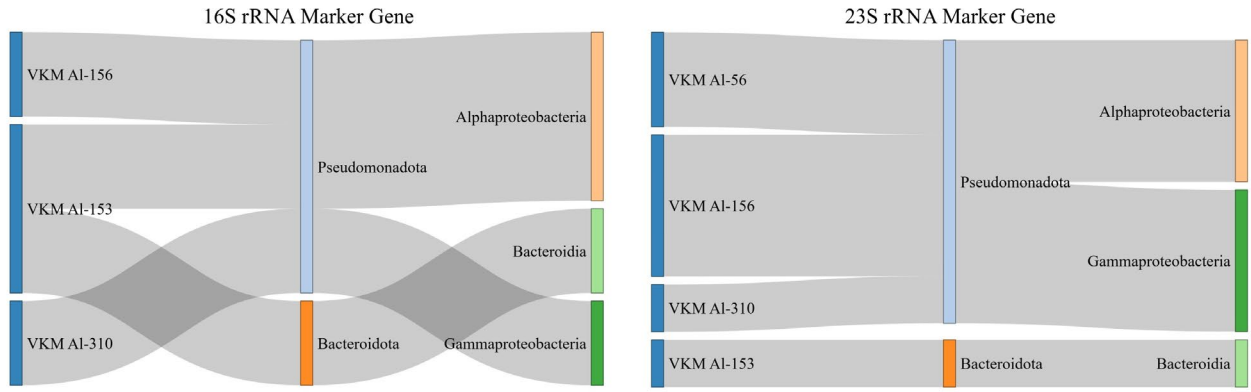


Fig.3. Sankey diagrams illustrating the distribution of satellite bacterial taxa across phylogenetic levels based on 16S and 23S rRNA gene data.

Note. Stream widths are proportional to the number of detected taxa. VKM cyanobacterial strains are highlighted in blue; other bacterial phyla and classes are differentiated by color coding.

Analysis of ribosomal marker genes allowed for a detailed characterization of the composition and structure of the core heterotrophic satellite microbiota localized within the exopolysaccharide sheaths of the investigated cultures (Fig. 4). The strain *A. pirinica* VKM Al-153 was characterized by the presence of the genera *Pseudoflavitalea* and *Devosia*. In the strain *N. edaphicum* VKM Al-156, three genera belonging to the class Alphaproteobacteria were identified: *Bosea, Brevundimonas*, and *Variovorax*. In the metagenomic assembly of *Nostoc* sp. VKM Al-56, the genera *Brevundimonas* and *Achromobacter* were detected. The profile of the strain *Nostoc* sp. VKM Al-310 was of particular interest. Due to the high conservation of ribosomal sequences within the family Xanthomonadaceae, the associated bacterial contig of this culture exhibited an ambiguous classification at different levels of bioinformatic resolution. According to the 16S rRNA gene data, the taxon was assigned to the genus *Xanthomonas* with 90.6% sequence identity, whereas the 23S rRNA gene analysis allowed for a more refined systematic classification, verifying this biocontrol strain as *Lysobacter* (96.8% sequence identity). For the remaining five strains (VKM Al-35, VKM Al-37, VKM Al-115, VKM Al-158, and VKM Al-168), ribosomal markers of the accompanying microbiota were not detected within the metagenomic contigs at all.

It is worth noting that the lack of detection of satellite ribosomal markers or separate bins of the associated microbiota for a number of strains does not imply complete biological sterility of these cultures. This outcome could be due to a low relative abundance of the associated bacteria, insufficient sequencing depth to ensure their coverage, or the fact that the satellite genomes were not assembled into separate bins due to data fragmentation.

3.5. General characterization of the genomic functional profile

Functional annotation of the nine cyanobacterial metagenome-assembled genomes (MAGs) was performed using Prokka in combination with KofamScan (KEGG) (Table 3).

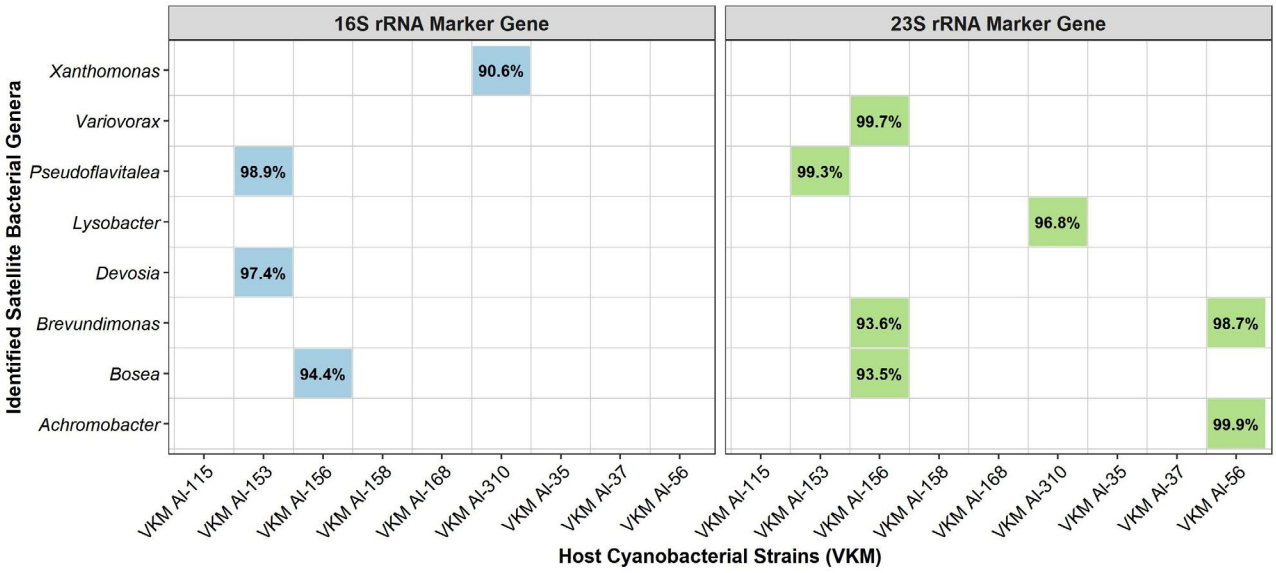


Fig.4. Presence of satellite bacterial taxa within non-axenic VKM cyanobacterial strains based on 16S and 23S rRNA gene data.

Note. Cells indicate the sequence identity percentage against the SILVA reference database.

Table 3. Results of functional genome annotation based on Prokka and KofamScan data.

VKM Strain ID	Number of Predicted Genes	Number of Protein-Coding Genes	Number of Non-Hypothetical Proteins	Number of Enzyme-Commission Assigned Genes
35	7680	7583	2995	1367
37	7361	7268	2950	1345
56	5998	5904	2637	1224
115	7834	7741	2995	1394
153	5701	5650	2337	1115
156	6858	6786	2759	1288
158	6613	6544	2614	1214
168	8157	8063	3011	1397
310	7031	6943	2933	1358

The total number of predicted genes varied from 5701 (*A. pirinica* VKM Al-153) to 8157 (*N. minutum* VKM Al-168). The proportion of CDS accounted for 98.1–99.1% of the total number of predicted genes. The number of hypothetical proteins with unassigned functions fluctuated from 2337 (*A. pirinica* VKM Al-153) to 3011 (*N. minutum* VKM Al-168). The number of genes with assigned enzymatic functions ranged from 1115 (*A. pirinica* VKM Al-153) to 1397 (*N. minutum* VKM Al-168), corresponding to 17.8–19.6% of the total predicted genes. The obtained data demonstrate a functional repertoire typical for representatives of the order Nostocales, while the variations in the number of predicted genes and annotated functions reflect the taxonomic diversity of the investigated strains. The complete functional profiles based on KEGG and RAST annotations for all nine studied genomes are provided in Tables S1 and S2, respectively.

3.6. Analysis of the agrobiotechnological potential of the strains

A comprehensive comparative analysis of the genomic functional profiles allowed for the distribution of metabolic pathways into key agronomically significant categories and revealed a pronounced specialization among the strains (Fig. 5, Tables S1 and S2).

As expected, the highest number of genes across all investigated cyanobacteria is concentrated within the core metabolism and cellular signaling blocks. In particular, the regulatory pathways “Carbohydrate metabolism” (ranging from 311 in strain VKM Al-153 to 417 in VKM Al-115) and “Amino acid metabolism” (from 246 in VKM Al-153 to 341 in VKM Al-115) proved to be the most representative. Such redundancy in fundamental pathways reflects the high energetic and biosynthetic demands of photoautotrophic microorganisms. Notably, the high saturation of genes associated with carbohydrate metabolism and glycan biosynthesis in strains of the genus *Nostoc* (primarily VKM Al-115) genetically determines their capacity for active formation of the exopolysaccharide matrix, which plays a key role in soil structuring and protecting the rhizosphere from desiccation. The categories forming the “Plant growth promotion and biocontrol of phytopathogens” block are moderately represented. Specifically, the “Biosynthesis of secondary metabolites” and “Metabolism of terpenoids and polyketides” pathways comprise 61–120 and 71–120 genes, respectively. The highest potential for the synthesis of antimicrobial compounds and non-ribosomal peptides involved in phytopathogen suppression is observed in strains VKM Al-115 and VKM Al-168. Interestingly, these same strains also demonstrate the highest metrics for regulatory systems, including “Signal transduction” (375 and 356 genes), “Metabolism of cofactors and vitamins” (327 and 315 genes), and “Environmental adaptation” (16 and 17 genes, respectively), which may indicate their high physiological plasticity and competitiveness during plant tissue colonization. Within the mineral nutrition block, a complete functional nitrogen fixation gene cluster (*nif* cluster) was detected in all studied cultures, along with a well-developed complex of phosphate mobilization genes (including phytases, phosphatases, and specialized transport systems). However, a clear organismal specificity was revealed regarding iron metabolism: strain VKM Al-56 sharply stands out against the general background due to the presence of 14 iron utilization and transport (siderophore) genes, whereas in the other investigated strains, this metric varies within a range of only 1–4 genes. This allows for the consideration of VKM Al-56 as a potential agent for overcoming iron deficiency in agrocenoses.

4. Discussion

In the present study, based on deep metagenomic sequencing of non-axenic cultures, MAGs of nine cyanobacterial strains belonging to the order Nostocales, isolated from various soil and climatic zones of the European part of Russia, were successfully recovered. The applied approach confirmed its efficacy for working with non-axenic strains and allowed for a comprehensive taxonomic and functional analysis without the axenization stage, which remains an extremely challenging task for cyanobacteria due to their slow growth rates and tight metabolic interactions with the accompanying microbiota (Wu et al., 2025). The obtained high-quality MAGs provided a robust foundation for taxonomic identification and functional profiling. The results of the analysis performed on the TYGS server indicated that all nine strains represent potentially novel species, which is consistent with data regarding

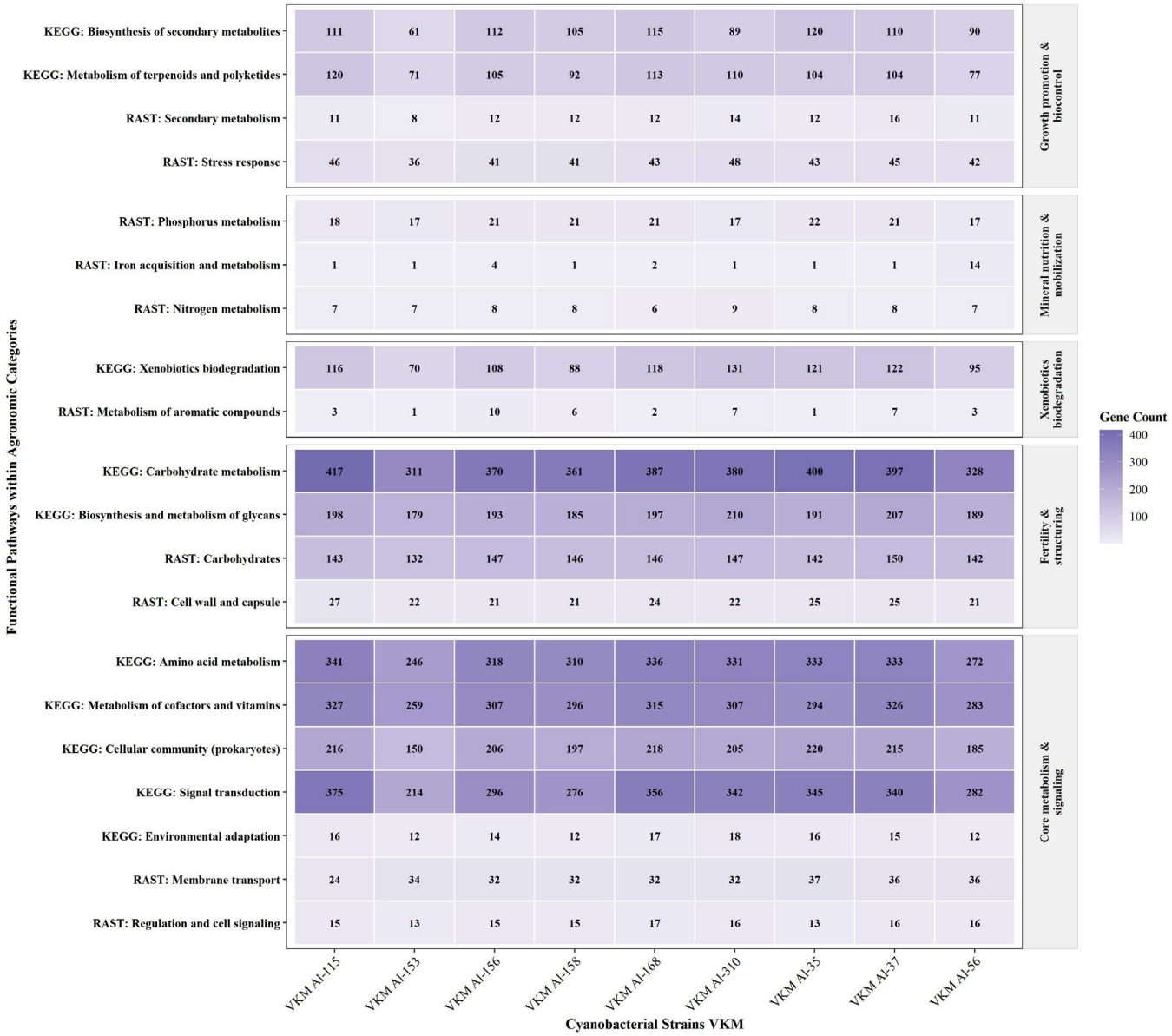


Fig.5. Heatmap illustrating gene abundance within agronomically significant functional categories across the genomes of the investigated cyanobacterial strains.

the insufficient knowledge of terrestrial cyanobacteria, but may also be due to a shortage of reference genomes in international genetic information databases. Notably, clustering based on whole-genome data does not always align with 16S rRNA gene phylogeny, which is likely due to differences in the resolution capacity of these approaches (Prabha and Singh, 2019; Dvořák et al., 2023).

Morphological observations confirmed the presence of well-developed mucilaginous sheaths in all investigated strains. According to multi-omics models of rhizospheric interactions, intensive EPS production enables microbial consortia to retain moisture near the roots, optimize metabolite exchange, and protect partners under conditions of oxidative and osmotic stress (Costa et al., 2018; Kimotho and Maina, 2024). The well-developed EPS apparatus also performs a biomechanical function, enhancing the anti-erosion resistance of soils (Chamizo et al., 2018). Based on the number of glycan biosynthesis genes, strains *Nostoc* sp. VKM Al-115 and *N. minutum* VKM Al-168 demonstrated the highest potential for EPS matrix formation, making them preferred candidates for application in soils prone to erosion and degradation.

The wide spectrum of soil and climatic conditions from which the investigated strains were isolated suggests the presence of genetic adaptations to various stress factors, such as salinity, drought, and nutrient deficiency. This makes them promising candidates for the development of biological formulations effective across a broad range of agroecological conditions, which is particularly relevant for the soils of the southern regions of Russia that are prone to degradation (Chen et al., 2025). Bioinformatic analysis suggests a certain correlation between the ecological characteristics of the strains' sites of origin and their functional profiles. In particular, the isolation of strains *N. commune* VKM Al-35 and *N. punctiforme* VKM Al-37 from the solonetz soils of the Volgograd region coincides with the recording of the highest metrics for carbohydrate and amino acid metabolism pathways in these strains. This may indicate a well-developed genetic potential for the syn-

thesis of intracellular osmoprotectants necessary for survival under elevated osmotic pressure. Conversely, adaptation to the arid conditions of the semi-desert soils of the Republic of Kalmykia might have stimulated the formation of a coupled biosynthesis apparatus for three key classes of phytohormones (auxins, cytokinins, and gibberellins) in the strain *H. pseudoramosissima* VKM Al-158, and gene cassettes potentially involved in the degradation of aromatic compounds in the strain *N. edaphicum* VKM Al-156. Similar trends can be traced for other southern isolates. For instance, the origin of the strain *A. pirinica* VKM Al-153 from a meadow soil is associated with the recording of the maximum number of signal transduction genes within the studied sample, which theoretically could provide it with higher sensitivity to root exudates during rhizosphere colonization. The specificity of the chestnut soils of the dry steppe, characterized by a severe moisture deficit, may explain the enrichment of the genome of strain *N. minutum* VKM Al-168 with terpenoid and polyketide synthesis pathways potentially involved in interspecies competition. Strains *Nostoc* sp. VKM Al-115 (Tula region) and *Nostoc* sp. VKM Al-56 (Moscow region), isolated from forest soils, demonstrate an increased abundance of carbohydrate and iron transport pathways.

Functional genome profiling revealed a complete nitrogen fixation gene cluster (*nif* cluster) and well-developed phosphate mobilization systems across all strains, which represents a key advantage of cyanobacteria as agrobiotechnological agents (Sharma et al., 2013; Chen et al., 2025). The high abundance of signal transduction and membrane transport genes indicates an ability to efficiently recognize root exudates, migrate into the rhizosphere, and utilize organic compounds secreted by the plant (Santos-Merino et al., 2019; Li et al., 2024). Strain VKM Al-56 is distinguished by the presence of 14 iron metabolism (siderophore) genes, which provides a competitive advantage by limiting iron availability to phytopathogens (Krishnan et al., 2025). The aromatic compound metabolism apparatus identified in *N. edaphicum* VKM Al-156 indicates a potential capacity for herbicide detoxification and the bioremediation of agroecosystems (Książek-Trela et al., 2025). The utilization of non-axenic cultures minimizes the carbon burden on the plant, as the phototrophic backbone independently satisfies the trophic demands of the satellite PGPB “helpers” (Palkina et al., 2025). According to modern concepts, the division of labor between the host and satellites accelerates the mineralization of aromatic structures in the soil (Raj and Shahid, 2026).

A key aspect of this study is that non-axenic cyanobacterial cultures with their natural bacterial environment can be conceptually viewed as natural prototypes and biological models of synthetic microbial communities. In such systems, the phototrophic host acts as a keystone species responsible for primary element fixation and the production of the exopolysaccharide matrix, whereas the heterotrophic satellites function as helper species that protect the consortium from pathogens and enhance its rhizospheric fitness (Li et al., 2024). Analysis of the satellite microbiota revealed the presence of bacteria from the phyla Pseudomonadota and Bacteroidota. The identification of plant growth-promoting bacteria belonging to the genera *Lysobacter*, *Devosia,* and *Achromobacter* aligns with current concepts regarding their crucial role as functional helpers in the rhizosphere. The presence of the genera *Lysobacter* and *Devosia* is traditionally associated with the mechanisms of induced systemic resistance in plants and the biocontrol of pathogens (Abbasi et al., 2021). In the rhizosphere and soil consortia, species of the genus *Lysobacter* are capable of actively suppressing the growth of fungal phytopathogens due to the production of a wide range of extracellular lytic enzymes (Gómez Expósito et al., 2015), while representatives of *Devosia* effectively mitigate the adverse effects of abiotic stresses and enhance seedling vigor (Monjezi et al., 2023). The involvement of *Achromobacter* and *Brevundimonas* in consortium metabolism contributes significantly to nutrient cycling. *Achromobacter* strains complement the general model of metabolic labor division within microbial systems due to their high phosphate-solubilizing activity (Ma et al., 2011; Zhang et al., 2026). In turn, the associated bacteria of the genus *Brevundimonas* demonstrate a pronounced synergistic activity within complex biostimulants, not only intensifying auxin production and phosphorus mobilization (Mukherjee et al., 2022) but also performing biological nitrogen fixation (Naqqash et al., 2020), which directly accelerates root system development and biomass growth of the hosts.

In accordance with the diversity-stability hypothesis, the maximum biocontrol potential and stable manifestation of complex applied traits in the rhizosphere depend on synergistic interspecies interactions at the level of the entire consortium, rather than isolated monocultures (Niu et al., 2017; Trivedi et al., 2020). This theoretically substantiates the applied value of non-axenic cyanobacterial cultures as natural prototypes of synthetic microbial communities, making the selection of such multifunctional natural associations a priority direction for modern agrobiotechnologies.

Concurrently, comprehensive *de novo* profiling (the MAG approach) allows not only for the effective resolution of polyphasic taxonomy issues in terrestrial cyanobacteria (Sudianto et al., 2026) but also for a detailed characterization of the associated microbiota composition, which plays a pivotal role in the functional stability and biotechnological potential of soil consortia (Garcia et al., 2025; Palmer et al., 2025).

Despite the high significance of the findings, the present study has several limitations. The functional characterization of the strains is based exclusively on *in silico* bioinformatic predictions. Although the presence of genetic determinants, such as *nif* clusters or phytohormone biosynthesis pathways, indicates metabolic potential, their actual expression and applied efficiency *in vivo* are heavily dependent on dynamic soil-climatic factors, plant root exudates, and complex epigenetic regulatory networks. An additional challenge when transitioning from laboratory models to real agroecosystems remains the field stability of the consortia, as associative diazotrophs inevitably face intense com-

petition from the native soil microbiome for trophic resources and ecological niches during root colonization. Finally, a significant limitation of current annotation methods is the high proportion of unclassified genes and hypothetical proteins, the number of which in the investigated genomes significantly exceeds that of functionally characterized CDS. This indicates that the actual biotechnological and metabolic potential of the studied autochthonous strains may be substantially higher than predicted; however, its precise identification is currently limited by the fragmentation of reference genetic databases for soil cyanobacteria.

5. Conclusions

As a result of the conducted study, a comprehensive genomic characterization of nine non-axenic soil cyanobacterial strains of the order Nostocales from the All-Russian Collection of Microorganisms was achieved using metagenomic whole-genome sequencing approaches. The application of a *de novo* metagenomic assembly strategy followed by bioinformatic binning allowed for the reconstruction of high-quality genomes of the target phototrophic strains, bypassing the classical step of obtaining pure isolated cultures. Phylogenomic analysis revealed a high degree of distinctness among the investigated strain repository, which allows for the consideration of these strains as candidates for novel species. Nevertheless, the observed novelty may be partially attributed to the current fragmentation of global databases and the shortage of reference sequences for soil cyanobacteria. Profiling of marker ribosomal genes revealed the presence of heterotrophic bacteria belonging to the genera *Devosia*, *Lysobacter*, *Brevundimonas*, *Variovorax*, *Bosea*, *Achromobacter*, and *Pseudoflavitalea*, which confirms the presence of taxa possessing pronounced plant growth-promoting and biocontrol properties within the non-axenic cyanobacterial cultures. Screening of the agrobiotechnological potential confirmed the presence of a universal genetic basis for nitrogen fixation and phosphorus mobilization systems across all nine studied strains. Based on an integrated analysis of genomic profiles for the presence of key agronomically valuable traits (the capacity for phytohormone synthesis, nitrogen fixation, phosphate mobilization, pathogen defense, and abiotic stress tolerance), and considering their taxonomic and biogeographic diversity, the strains *A. pirinica* VKM Al-153, *H. pseudoramosissima* VKM Al-158, and *Nostoc* sp. VKM Al-115 were identified as promising candidates for further plant growth experiments aimed at developing stable, next-generation biological formulations.

Acknowledgements

The authors are deeply grateful to Y.S. Bukin (Laboratory of Genosystematics, Limnological Institute, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences) for valuable consultations and assistance in the preparation of this study.

This work was supported by the Russian Science Foundation under project no. 25-26-00311.

Conflicts of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

Abo-Shady A.M., Osman M.E.A.H., Gaafar R.M. et al. 2023. Cyanobacteria as a valuable natural resource for improved agriculture, environment, and plant protection. Water, Air, & Soil Pollution 234: 313. DOI: 10.1007/s11270-023-06331-7

Abbasi S., Spor A., Sadeghi A. et al. 2021. Streptomyces strains modulate dynamics of soil bacterial communities and their efficacy in disease suppression caused by *Phytophthora capsici*. Scientific Reports 11: 9317. DOI: 10.1038/s41598-021-88495-y

Altschul S.F., Gish W., Miller W. et al. 1990. Basic local alignment search tool. Journal of Molecular Biology 215(3): 403–410. DOI: 10.1016/S0022-2836(05)80360-2

Aramaki T., Blanc-Mathieu R., Endo H. et al. 2020. KofamKOALA: KEGG Ortholog assignment based on profile HMM and adaptive score threshold. Bioinformatics 36: 2251–2252. DOI: 10.1093/bioinformatics/btz859

Aziz R.K., Bartels D., Best A.A. et al. 2008. The RAST Server: rapid annotations using subsystems technology. BMC Genomics 9: 75. DOI: 10.1186/1471-2164-9-75

Bankevich A., Nurk S., Antipov D. et al. 2012. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. Journal of Computational Biology 19: 455–477. DOI: 10.1089/cmb.2012.0021

Bowers R.M., Kyrpides N.C., Stepanauskas R. et al. 2017. Minimum information about a single amplified genome (MISAG) and a metagenome-assembled genome (MIMAG) of bacteria and archaea. Nature Biotechnology 35: 725–731. DOI: 10.1038/nbt.3893

Brettin T., Davis J.J., Disz T. et al. 2015. RASTtk: a modular and extensible implementation of the RAST algorithm for building custom annotation pipelines and annotating batches of genomes. Scientific Reports 5: 8365. DOI: 10.1038/srep08365

Camacho C., Coulouris G., Avagyan V. et al. 2009. BLAST+: architecture and applications. BMC Bioinformatics 10: 421. DOI: 10.1186/1471-2105-10-421

Chamizo S., Mugnai G., Rossi F. et al. 2018. Cyanobacteria inoculation improves soil stability and fertility on different textured soils: gaining insights for applicability in soil restoration. Frontiers in Environmental Science 6: 49. DOI: 10.3389/fenvs.2018.00049

Chen J., Wang L., Wei X. et al. 2025. Engineering of plant growth-promoting bacteria for sustainable nutrient management and agricultural sustainability. Journal of Integrative Agriculture 25(5): 2178–2182. DOI: 10.1016/j.jia.2025.10.021

Chklovski A., Parks D.H., Woodcroft B.J. et al. 2023. CheckM2: a rapid, scalable and accurate tool for assessing microbial genome quality using machine learning. Nature Methods 20: 1203–1212. DOI: 10.1038/s41592-023-01940-w

Costa O.Y.A., Raaijmakers J.M., Kuramae E.E. 2018. Microbial extracellular polymeric substances: ecological function and impact on soil aggregation. Frontiers in Microbiology 9: 1636. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01636

Dvořák P., Jahodářová E., Stanojković A. et al. 2023. Population genomics meets the taxonomy of cyanobacteria. Algal Research 72: 103128. DOI: 10.1016/j.algal.2023.103128

Freese H.M., Meier-Kolthoff J.P., Sardà Carbasse J. et al. 2025. TYGS and LPSN in 2025: a Global Core Biodata Resource for genome-based classification and nomenclature of prokaryotes within DSMZ Digital Diversity. Nucleic Acids Research 54(D1): D884–D891. DOI: 10.1093/nar/gkaf1110

Garcia M., Bruna P., Duran P. et al. 2025. Cyanobacteria and Soil Restoration: Bridging Molecular Insights with Practical Solutions. Microorganisms 13(7): 1468. DOI: 10.3390/microorganisms13071468

Gómez Expósito R., Postma J., Raaijmakers J.M. et al. 2015. Diversity and Activity of Lysobacter Species from Disease Suppressive Soils. Frontiers in Microbiology 6: 1243. DOI: 10.3389/fmicb.2015.01243

Gurevich A., Saveliev V., Vyahhi N. et al. 2013. QUAST: quality assessment tool for genome assemblies. Bioinformatics 29: 1072–1075. DOI: 10.1093/bioinformatics/btt086

Hackmann T.J. 2025. Setting new boundaries of 16S rRNA gene identity for prokaryotic taxonomy. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 75(4): 006747. DOI: 10.1099/ijsem.0.006747

Jones M.R., Pinto E., Torres M.A. et al. 2021. CyanoMetDB, a comprehensive public database of secondary metabolites from cyanobacteria. Water Research 196: 117017. DOI: 10.1016/j.watres.2021.117017

Kanehisa M., Furumichi M., Sato Y. et al. 2023. KEGG for taxonomy-based analysis of pathways and genomes. Nucleic Acids Research 51: D587–D592. DOI: 10.1093/nar/gkac963

Kimotho R.N., Maina S. 2024. Unraveling plant–microbe interactions: can integrated omics approaches offer concrete answers? Journal of Experimental Botany 75(5): 1289–1313. DOI: 10.1093/jxb/erad448

Komárek J. 2013. Cyanoprokaryota 3: Heterocytous Genera. In: Büdel B., Gärtner G., Krienitz L., Schagerl M. (Eds.). Süsswasserflora von Mitteleuropa. V. 19/3. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag.

Kouidhi S., Passmore J.A.S., Setati M.E. et al. 2025. Bridging data gaps: African reference genomes advancing inclusive microbiome research. Trends in Microbiology 33(5): 479–482. DOI: 10.1016/j.tim.2025.02.001

Krishnan K.S., Rangasamy A., Arunan Y.E. et al. 2025. Microbial inoculants – fostering sustainability in groundnut production. Science Progress 108(2): 1–39. DOI: 10.1177/00368504251338943

Książek-Trela P., Potocki L., Szpyrka E. 2025. The impact of novel bacterial strains and their consortium on diflufenican degradation in the mineral medium and soil. Scientific Reports 15(1): 18051. DOI: 10.1038/s41598-025-02696-3

Lagesen K., Hallin P. 2007. RNAmmer: consistent and rapid annotation of ribosomal RNA genes. Nucleic Acids Research 35: 3100–3108. DOI: 10.1093/nar/gkm160

Lefort V., Desper R., Gascuel O. 2015. FastME 2.0: A comprehensive, accurate, and fast distance-based phylogeny inference program. Molecular Biology and Evolution 32: 2798–2800. DOI: 10.1093/molbev/msv150

Letunic I., Bork P. 2021. Interactive Tree Of Life (iTOL) v5: an online tool for phylogenetic tree display and annotation. Nucleic Acids Research 49(W1): W293-W296. DOI: 10.1093/nar/gkab301

Li J., Li C., Smith S.M. 2017. Hormone Metabolism and Signaling in Plants. Academic Press Elsevier: London, UK. DOI: 10.1016/B978-0-12-811562-6.00001-3

Li M., Hu J., Wei Z. et al. 2024. Synthetic microbial communities: Sandbox and blueprint for soil health enhancement. iMeta 3: e172. DOI: 10.1002/imt2.172

Ma Y., Prasad M.N.V., Rajkumar M. et al. 2011. Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phytoremediation of metalliferous soils. Biotechnology Advances 29(2): 248–258. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2010.12.001

Meier-Kolthoff J.P., Auch A.F., Klenk H.-P. et al. 2013. Genome sequence-based species delimitation with confidence intervals and improved distance functions. BMC Bioinformatics 14: 60. DOI: 10.1186/1471-2105-14-60

Meier-Kolthoff J.P., Göker M. 2019. TYGS is an automated high-throughput platform for state-of-the-art genome-based taxonomy. Nature Communications 10: 2182. DOI: 10.1038/s41467-019-10210-3

Meier-Kolthoff J.P., Sardà Carbasse J., Peinado-Olarte R.L. et al. 2022. TYGS and LPSN: a database tandem for fast and reliable genome-based classification and nomenclature of prokaryotes. Nucleic Acids Research 50: D801-D807. DOI: 10.1093/nar/gkab902

Monjezi N., Yaghoubian I., Smith D.L. 2023. Cell-free supernatant of Devosia sp. (strain SL43) mitigates the adverse effects of salt stress on soybean (Glycine max L.) seed vigor index. Frontiers in Plant Science 14: 1071346. DOI: 10.3389/fpls.2023.1071346

Mukherjee A., Singh S., Gaurav A.K. et al. 2022. Harnessing of phytomicrobiome for developing potential biostimulant consortium for enhancing the productivity of chickpea and soil health under sustainable agriculture. Science of the Total Environment 836: 155550. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2022.155550

Naqqash T., Imran A., Hameed S. et al. 2020. First report of diazotrophic Brevundimonas spp. as growth enhancer and root colonizer of potato. Scientific Reports 10: 12893. DOI: 10.1038/s41598-020-69782-6

Niu B., Paulson J.N., Zheng X. et al. 2017. Simplified and representative bacterial community of maize roots. Proceedings of the National Academy of Sciences 114(12): E2450-E2459. DOI: 10.1073/pnas.1616148114

Overbeek R., Olson R., Pusch G.D. et al. 2014. The SEED and the Rapid Annotation of microbial genomes using Subsystems Technology (RAST). Nucleic Acids Research 42: D206–D214. DOI: 10.1093/nar/gkt1226

Palkina K.A., Choob V.V., Yampolsky I.V. et al. 2025. Pros and Cons of Interactions Between Crops and Beneficial Microbes. Agriculture 15(12): 2526. DOI: 10.3390/agriculture15242526

Palmer B., Couradeau E.M., Johansen J.R. et al. 2025. Unraveling the diversity and functional potential of cyanosphere microbiomes assembled from terrestrial cyanobacteria. bioRxiv. DOI: 10.1101/2025.06.10.658773

Prabha R., Singh D.P. 2019. Cyanobacterial phylogenetic analysis based on phylogenomics approaches render evolutionary diversification and adaptation: an overview of representative orders. 3 Biotech 9(3): 87. DOI: 10.1007/s13205-019-1635-6

Quast C., Pruesse E., Yilmaz P. et al. 2013. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. Nucleic Acids Research 41(Database issue): D590–596. DOI: 10.1093/nar/gks1219

Raj A., Shahid M. 2026. In-silico-driven SynCom engineering with cyanobacteria for efficient pesticide degradation: A review. Algal Research 95: 104636. DOI: 10.1016/j.algal.2026.104636

Santos-Merino M., Singh A.K., Ducat D.C. 2019. New applications of synthetic biology tools for cyanobacterial metabolic engineering. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology 7: 33. DOI: 10.3389/fbioe.2019.00033

Seemann T. 2014. Prokka: rapid prokaryotic genome annotation. Bioinformatics 30: 2068–2069. DOI: 10.1093/bioinformatics/btu153

Sharma S.B., Sayyed R.Z., Trivedi M.H. et al. 2013. Phosphate solubilizing microbes: Sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. SpringerPlus 2: 587. DOI: 10.1186/2193-1801-2-587

Shayanthan A., Ordoñez P.A.C., Oresnik I.J. 2022. The Role of Synthetic Microbial Communities (SynCom) in Sustainable Agriculture. Frontiers in Agronomy 4: 896307. DOI: 10.3389/fagro.2022.896307

Singh J.S., Kumar A., Rai A.N. et al. 2016. Cyanobacteria: A Precious Bio-resource in Agriculture, Ecosystem, and Environmental Sustainability. Frontiers in Microbiology 7: 529. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00529

Sudianto E., Shlafstein M.D., Durieu B. et al. 2026. Taxonomic description of cyanobacteria from extreme habitats through genome-based classification. Frontiers in Microbiology 17: 1824103. DOI: 10.3389/fmicb.2026.1824103

Temraleeva A.D., Sinetova M.A., Gabrielyan D.A. et al. 2025. Cyanobacteria for Plant Growth Promotion: From Taxon and Metabolite Diversity to Large-Scale Cultivation and Agricultural Applications. Biologia et Biotechnologia 3: 1. DOI: 10.61847/pbcras.bbt.2025.3.1

Trivedi P., Leach J.E., Tringe S.G. et al. 2020. Plant–microbiome interactions: from community assembly to plant health. Nature Reviews Microbiology 18(11): 607–621. DOI: 10.1038/s41579-020-0412-1

Whitton B.A., Potts M. 2012. Ecology of Cyanobacteria II: Their Diversity in Space and Time. Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, The Netherlands. DOI: 10.1007/978-94-007-3855-3

Wood D.E., Lu J., Langmead B. 2019. Improved metagenomic analysis with Kraken 2. Genome Biology 20: 257. DOI: 10.1186/s13059-019-1891-0

Wu D., Seshadri R., Kyrpides N.C. et al. 2025. A metagenomic perspective on the microbial prokaryotic genome census. Science Advances 11(3): eadq2166. DOI: 10.1126/sciadv.adq2166

Wu Y.W., Simmons B.A., Singer S.W. 2016. MaxBin 2.0: an automated binning algorithm to recover genomes from multiple metagenomic datasets. Bioinformatics 32: 605–607. DOI: 10.1093/bioinformatics/btv638

Yanti Y., Hamid H., Reflin. 2021. Development of the PGPR and Cyanobacteria Consortium for Growth Promotion and Control *Ralstonia syzigii* subsp. *indonesiensis* of Tomato. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 709(1): 012085. DOI: 10.1088/1755-1315/709/1/012085

Zhang Y., Jing M., Lyu L. et al. 2026. Principles for Rigorous Design and Application of Synthetic Microbial Communities. Advanced Science 13(1): e14750. DOI: 10.1002/advs.202514750

Zimenkov D., Ushtanit A. 2025. Comparative Analysis of Evolutionary Distances Using the Genus *Mycobacterium*. International Journal of Molecular Sciences 26(21): 10471. DOI: 10.3390/ijms262110471

Оригинальная статья
LIMNOLOGY FRESHWATER BIOLOGY

Метагеномно-ассоциированные геномы неаксеничных цианобактерий: таксономия, функциональный потенциал и отбор перспективных штаммов для агробиотехнологий

Темралеева А.Д.[1]*, Арефьева Н.А.[2], Каменев А.О.[3], Дидович С.В.[3]

[1] *Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, ФИЦ ПНЦБИ РАН, проспект Науки, 5, Пущино, 142290, Россия*
[2] *Иркутский государственный медицинский университет, ул. Красного Восстания, 2, Иркутск, 664003, Россия*
[3] *ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма», ул. Киевская, 150, Симферополь, 295043, Россия*

АННОТАЦИЯ. Поиск новых высокоэффективных штаммов микроорганизмов и конструирование на их основе полифункциональных микробных препаратов является одним из ключевых векторов развития современных агробиотехнологий. В настоящей работе с использованием методов полногеномного анализа метагеномов проведена комплексная таксономическая и функциональная характеристика девяти неаксеничных штаммов почвенных нитчатых цианобактерий порядка Nostocales. Сборка геномов, собранных из метагеномов, позволила реконструировать высококачественные геномные последовательности целевых таксонов без трудоемкого этапа аксенизации штаммов. Согласно филогеномному анализу, исследованные культуры занимают обособленное положение на филогенетическом дереве и могут рассматриваться в качестве кандидатов в новые таксоны, что, однако, требует дальнейшей верификации по мере преодоления существующего дефицита референсных геномов почвенных цианобактерий. На основе маркерных рибосомальных генов охарактеризован состав сопутствующей сателлитной микробиоты, локализованной в экзополисахаридных чехлах хозяев. Верифицировано присутствие полезных гетеротрофных бактерий из родов *Devosia*, *Lysobacter*, *Brevundimonas*, *Variovorax*, *Bosea*, *Achromobacter* и *Pseudoflavitalea*, обладающих выраженным ростостимулирующим и биоконтрольным потенциалом. Функциональная аннотация геномов выявила у всех штаммов наличие полного кластера генов азотфиксации и развитых систем мобилизации фосфора. Штамм *Nostoc* sp. VKM Al-56 выделялся уникальным аппаратом метаболизма железа, а *Nostoc edaphicum* VKM Al-156 – путями расщепления ароматических соединений. Интегральный анализ, учитывающий таксономическое и биогеографическое разнообразие, а также наличие ключевых агрономически ценных признаков (способность к синтезу фитогормонов, азотфиксации, мобилизации фосфатов, защите от патогенов и устойчивости к абиотическим стрессам), позволил отобрать три штамма-кандидата для дальнейших прикладных исследований по разработке биопрепаратов для растениеводства: *Nostoc* sp. VKM Al-115, *Hassallia pseudoramosissima* VKM Al-158 и *Anabaena pirinica* VKM Al-153.

Ключевые слова: цианобактерии, Nostocales, метагеномно-ассоциированные геномы, синтетические микробные сообщества, агробиотехнология

Для цитирования: Темралеева А.Д., Арефьева Н.А., Каменев А.О., Дидович С.В. Метагеномно-ассоциированные геномы неаксеничных цианобактерий: таксономия, функциональный потенциал и отбор перспективных штаммов для агробиотехнологий // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - С. 283-309. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-283

1. Введение

Поиск новых штаммов микроорганизмов для создания эффективных биопрепаратов является ключевым фактором обеспечения продовольственной безопасности. По прогнозам, к 2050 году население Земли достигнет 9,6 миллиардов человек, что потребует увеличения годового производства зерновых как минимум на 50% (Singh et al., 2016). В условиях исчерпания резервов новых земель единственной стратегией остается интенсифика-

*Автор для переписки. Адрес e-mail: temraleeva.anna@gmail.com (А.Д. Темралеева)

Поступила: 02 июля 2026;
Принята после доработки: 01 августа 2026;
Опубликована online: 28 августа 2026

© Автор(ы) 2026. Эта работа распространяется под международной лицензией Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.

ция сельского хозяйства, однако существующая модель, основанная на синтетических удобрениях и пестицидах, приводит к деградации плодородия, загрязнению экосистем и росту себестоимости продукции. В качестве альтернативы или дополнения к химической агрономии активно развивается биологизация сельского хозяйства, в которой важное место занимают цианобактерии – фототрофы с уникальным набором агрономически ценных функций: азотфиксация, фосфатмобилизация, синтез фитогормонов и экзополисахаридов (ЭПС) (Whitton and Potts, 2012; Sharma et al., 2013; Temraleeva et al., 2025). Известно более двух тысяч их вторичных метаболитов с выраженной антибактериальной и фунгицидной активностью (Li et al., 2017; Jones et al., 2021; Abo-Shady et al., 2023), а их полисахаридные матриксы формируют гидрогелевую сеть, обеспечивающую структурную целостность почвы и метаболический диалог с ризосферой (Costa et al., 2018).

Современный вектор агробиотехнологии смещается от малоэффективных моноштаммовых культур к конструированию многофункциональных синтетических сообществ (SynCom) (Shayanthan et al., 2022). В таких системах цианобактерии родов *Nostoc* и *Anabaena* выступают в роли фототрофного остова, создающего нишу для сателлитных гетеротрофных бактерий, стимулирующих рост растений, что позволяет запустить каскадную активацию почвенных ферментов и повысить супрессивность к патогенам (Santos-Merino et al., 2019; Yanti et al., 2021; Krishnan et al., 2025). Это особенно важно, поскольку усвояемость традиционных минеральных удобрений не превышает 30-50%, и лишь комплексное микробное воздействие способно раскрыть полноценный трофический потенциал агроэкосистем (Chen et al., 2025).

Однако ключевым лимитирующим фактором внедрения таких технологий остается острый дефицит региональных референсных геномов (Kouidhi et al., 2025). Чистые культуры охватывают менее 10% глобального прокариотического разнообразия (Wu et al., 2025), а эффективность инокулянтов часто снижается при переносе из лаборатории в поле из-за отсутствия адаптации к местным почвенно-климатическим условиям. Решение этой проблемы лежит в переходе к метагеномному секвенированию и сборке геномов из метагеномов (MAG, metagenome-assembled genomes) – геномных последовательностей, реконструируемых из метагеномных данных путем кластеризации контигов, принадлежащих одному таксону, с использованием алгоритмов биннинга. Такой подход особенно актуален для цианобактерий, поскольку получение их аксеничных культур представляет собой крайне сложную и трудоемкую задачу из-за тесных метаболических связей с сопутствующей микробиотой и медленного роста в сравнении с гетеротрофными бактериями-контаминантами. Метагеномное секвенирование неаксеничных штаммов позволяет обойти этап аксенизации и напрямую реконструировать геномы целевых штаммов, что открывает возможность не только выявлять новые таксоны, но и прогнозировать их функциональный потенциал *in silico*. Более того, сама неаксеничная культура цианобактерий с ее естественным бактериальным окружением может рассматриваться как упрощенная модель SynCom, где фототрофный хозяин и сателлитные гетеротрофы находятся в метаболическом взаимодействии. Изучение геномного состава такой ассоциации позволяет одновременно охарактеризовать цианобактериальный штамм и идентифицировать потенциальных партнеров для конструирования искусственных микробных консорциумов с заданными агрономическими свойствами. В связи с этим поиск и геномная паспортизация перспективных автохтонных штаммов цианобактерий становится первоочередной задачей для разработки стабильных и высокоэффективных биопрепаратов нового поколения.

Целью работы являлась комплексная геномная паспортизация девяти неаксеничных штаммов цианобактерий порядка Nostocales из Всероссийской коллекции микроорганизмов (ВКМ) с использованием MAG-подхода, включая их таксономическую идентификацию, функциональное профилирование и идентификацию генетических детерминант, перспективных для агробиотехнологических применений, а также характеристику состава сателлитной микробиоты. Хотя метагеномная сборка геномов цианобактерий уже применялась в ряде исследований, для почвенных штаммов цианобактерий из российских коллекций микроорганизмов такой подход в комплексе с анализом сателлитной микробиоты ранее не применялся. Новизна нашей работы заключается в интегральном анализе неаксеничных культур как природных прототипов синтетических микробных сообществ, что позволяет одновременно охарактеризовать целевой фототрофный штамм и идентифицировать сопутствующие PGPB-бактерии, перспективные для конструирования биопрепаратов.

2. Материалы и методы

2.1. Объекты исследования

Объектами исследования послужили 9 штаммов почвенных цианобактерий из ВКМ (Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино), принадлежащие порядку Nostocales: *Anabaena pirinica* VKM Al-153 (луговая почва, Волгоградская область), *Nostoc commune* VKM Al-35 (солонец, Волгоградская область), *Nostoc punctiforme* VKM Al-37 (солонец, Волгоградская область), *Nostoc* sp. VKM Al-56 (серая лесная почва, Московская область), *Nostoc* sp. VKM Al-115 (серая лесная почва, Тульская область), *Nostoc edaphicum* VKM Al-156 (бурая полупустынная почва, Республика Калмыкия), *Hassallia pseudoramosissima* VKM Al-158 (бурая полупустынная почва, Республика Калмыкия), *Nostoc minutum* VKM Al-168 (каштановая почва, Волгоградская область), *Nostoc* sp. VKM Al-310 (залежь, Ставропольский край). Исследуемые штаммы не являлись аксенич-

ными и содержали сопутствующую бактериальную микробиоту. Микроскопию и фотодокументацию морфологии штаммов проводили с помощью микроскопа Leica DM750 с цифровой камерой Flexacam C3 (Leica Microsystems, Германия). Морфологическую идентификацию проводили с использованием определителя гетероцитных цианобактерий (Komárek, 2013).

2.2. Выделение ДНК, высокопроизводительное секвенирование и контроль качества

Подготовку ДНК-библиотек (ферментативная фрагментация, лигирование адаптеров, амплификация) выполняли с использованием набора VAHTS Universal Plus DNA Library Prep Kit for Illumina V2 (Vazyme, Китай) по протоколу производителя. Качество библиотек контролировали на системе Qsep400 с набором High Sensitivity Cartridge Kit (BiOptic, Тайвань) и флуориметре Qubit 4 с набором Spectra Q HS (Raissol Bio, Россия). Секвенирование (PE150) проводили на платформе SURFSeq5000 (GeneMind, Китай) в компании «Медген» (Россия). Качество сырых ридов оценивали в FastQC v0.11.9 (Q-score, GC-состав, адаптерная контаминация, дупликация). Тримминг и удаление адаптеров — в Trimmomatic v0.39 с адаптерными последовательностями SURFseq от «Медген» и параметрами: ILLUMINACLIP:SURFseq_adapters.fa:2:30:10, AVGQUAL:25, MINLEN:75. Ввиду неаксеничности штаммов цианобактерий секвенирование выполнено в режиме глубокой метагеномики.

2.3. Сборка геномов, оценка качества и деконтаминация

Для устранения сигналов от потенциальной контаминации, обусловленной неаксеничным характером цианобактериальных штаммов, был применен многоступенчатый биоинформатический подход к фильтрации данных. *De novo* метагеномную сборку прочтений глубокого секвенирования выполняли с использованием SPAdes v3.15.5 (Bankevich et al., 2012) с опцией --meta и автоматическим подбором k-меров (--k auto). Контиги длиной менее 1000 п.н. удаляли с помощью seqkit v2.9.0. Для таксономической очистки и выделения целевых цианобактериальных геномов из состава ассоциированной сателлитной микробиоты проводили автоматическое бинирование с использованием MaxBin2 v2.2.7 (Wu et al., 2016). Потенциальную нецианобактериальную контаминацию в полученных бинах дополнительно идентифицировали и удаляли с помощью Kraken2 (Wood et al., 2019) по базе данных PlusPFP. На финальном этапе полноту собранных геномов и уровень контаминации верифицировали с использованием CheckM2 v1.1.0 (Chklovski et al., 2023). Для последующего функционального профилирования и аннотации кластеров биосинтеза генов (BGC) оставляли только бины высокого качества, уверенно отнесенные к целевым таксонам цианобактерий, с полнотой $>98\%$ и контаминацией $<4{,}5\%$. Общие метрики сборки (N50, общий размер генома, количество контигов) оценивали с помощью QUAST v5.2.0 (Gurevich et al., 2013).

2.4. Идентификация и таксономический анализ генов рРНК

Идентификацию участков, кодирующих гены большой (23S) и малой (16S) субъединиц рибосомальных генов в MAG, проводили путем сопоставления контигов геномных сборок с помощью алгоритма парного выравнивания BLASTn (Altschul et al., 1990) с полноразмерной базой данных рибосомальных генов SILVA (Quast et al., 2013). BLASTn запускали с параметрами: -word_size 12 -gapopen 2 -gapextend 1 -reward 1 -penalty -1 -evalue 0,00001. Для таксономической идентификации по 16S рРНК использовали порог идентичности $\geq 90\%$ (Hackmann, 2025), по 23S рРНК – $\geq 89\%$ на основе данных для близкородственных таксонов (Zimenkov and Ushtanit, 2025). Последовательности со значениями ниже указанных порогов исключали из дальнейшего анализа как низкокачественные. Риск включения химерных рибосомальных артефактов в финальный анализ был минимизирован за счет многоступенчатой процедуры деконтаминации (MaxBin2 и Kraken2), при которой гены рРНК анализировались строго в составе изолированных и верифицированных высококачественных бинов (MAGs), исключая попадание перекрестных прочтений из других таксонов. Таксономическая принадлежность детектированных последовательностей определялась согласно классификации базы SILVA.

2.5. Филогеномный анализ

Таксономическую идентификацию и филогенетическое положение исследуемых штаммов определяли с использованием онлайн-платформы Type (Strain) Genome Server (TYGS) (https://tygs.dsmz.de/) (Meier-Kolthoff and Göker, 2019; Meier-Kolthoff et al., 2022; Freese et al., 2025). Геномные последовательности загружали на сервер и в автоматическом режиме сравнивали с геномами типовых и референсных штаммов, доступными в актуальной базе данных TYGS, а также попарно между собой. Ближайшие родственные штаммы определяли с помощью алгоритма MASH для быстрой оценки межгеномного родства, а также на основе анализа последовательностей гена 16S рРНК, извлеченных из исследуемых геномов с использованием RNAmmer (Lagesen and Hallin, 2007), с последующим BLAST-поиском (Camacho et al., 2009) по базе данных типовых штаммов TYGS. На основании межгеномных расстояний, рассчитанных с использованием Genome BLAST Distance Phylogeny (GBDP) (Meier-Kolthoff et al., 2013) по алгоритму ‘trimming’ и формуле d5, строили филогеномное дерево с помощью FastME 2.1.6 (Lefort et al., 2015) со 100 псевдобутстреп-репликами; значения псевдобутстреп-под-

держки отображали на узлах. В качестве внешней группы использовали геномы *Gloeocapsopsis dulcis* AAB1 и *Chroogloeocystis siderophila* 5.2 s.c.1, относящиеся к отдаленным таксонам класса Cyanophyceae, что обеспечивает корректное укоренение филогенетического дерева. Визуализацию дерева выполняли с использованием платформы iTOL (Letunic and Bork, 2021).

2.6. Функциональная аннотация

Функциональную аннотацию геномов проводили двумя независимыми методами. В первом случае предсказание открытых рамок считывания (ORF) осуществляли с помощью Prokka v1.14.5 (Seemann, 2014), после чего определяли функциональную принадлежность белков по профилям скрытых марковских моделей (HMM) с использованием утилиты KofamScan v1.3.0 на основе базы данных KEGG (Release 116.0) (Aramaki et al., 2020). Геномное картирование и реконструкцию метаболических путей выполняли в среде KEGG PATHWAY (Kanehisa et al., 2023). Во втором случае аннотацию геномов проводили с использованием алгоритма RASTtk с параметрами по умолчанию на онлайн-сервере RAST (октябрь 2025 г.) (https://rast.nmpdr.org/) (Aziz et al., 2008; Brettin et al., 2015). Функциональную категоризацию осуществляли в соответствии с классификацией подсистем SEED (Overbeek et al., 2014).

2.7. Визуализация данных

Визуализацию данных выполняли в среде R с использованием пакетов *ggplot2*, *tidyr*, *dplyr*, *stringr*, *networkD3*, *htmlwidgets* и *webshot2*. На основе данных анализа генов 16S и 23S рРНК строили тепловые карты присутствия/отсутствия таксонов сателлитной микробиоты с указанием процента идентичности. Распределение таксонов по филогенетическим уровням (филум -> класс) отображали в виде санкей-диаграмм. Для сравнительного анализа функционального профиля геномов по агрономически значимым категориям KEGG строили тепловую карту с отображением количества генов в каждой категории.

3. Результаты

3.1. Морфологическая характеристика и эколого-географическое разнообразие штаммов

Морфологически все исследованные штаммы демонстрировали разнообразие морфотипов, характерное для представителей порядка Nostocales (Komárek, 2013). *A. pirinica* VKM Al-153 формировала прямые или слегка изогнутые трихомы, окруженные широким (до 12 мкм) слоем слизи, с бочонковидными вегетативными клетками (3,3-4,2 мкм шириной), эллипсоидными акинетами (12-17,2 × до 8,2 мкм) и интеркалярными гетероцитами (4,3-5,3 мкм). Штаммы рода *Nostoc* характеризовались наличием плотных колоний различной формы (от шаровидных до червеобразных), бесцветных слизистых оболочек и вегетативных клеток бочонковидной или шаровидной формы. Размеры вегетативных клеток варьировали в зависимости от штамма: от 2,6-3,4 мкм у *Nostoc* sp. VKM Al-310 до 3,3-4,3 мкм у *N. commune* VKM Al-35. Акинеты, где они наблюдались, были преимущественно шаровидными или эллипсоидными, диаметром от 4,6 до 7,7 мкм, за исключением *A. pirinica* VKM Al-153, у которой акинеты достигали 17,2 мкм в длину. Гетероциты располагались интеркалярно или терминально, имели шаровидную, эллипсоидную или конусовидную форму диаметром 3,4-6,1 мкм. *Hassallia pseudoramosissima* VKM Al-158 выделялась кустистыми колониями и ложноветвящимися нитями шириной до 9,4 мкм с прочным слоистым влагалищем; ее гетероциты были крупными (до 10,5 мкм шириной и до 20-30 мкм в длину). Все штаммы размножались вегетативно (фрагментацией нитей или колоний), а также с помощью гормогониев и акинет. Микрофотографии штаммов представлены на Рисунке 1.

Изученные штаммы были изолированы из почвенных образцов, отобранных в пяти регионах европейской части Российской Федерации, и представляют широкий спектр почвенно-экологических условий: от луговых и серых лесных почв центральной России до солонцов, каштановых и бурых полупустынных почв южных регионов.

3.2. Качество секвенирования, сборка и характеристика MAG

В результате глубокого метагеномного секвенирования девяти неаксеничных штаммов цианобактерий получено от 16,1 до 23,6 млн парноконцевых прочтений на штамм, что соответствовало 2,4-3,5 Гб сырых данных (Таблица 1).

Прочтения с низким качеством отсутствовали для всех штаммов, что свидетельствует о высоком качестве исходных данных. Среднее содержание GC варьировало от 40 до 46% для большинства штаммов. Высокое содержание GC (65%) в сырых данных штамма VKM Al-310 (Таблица 1), контрастирующее с остальными цианобактериальными штаммами, отражает GC-состав всей метагеномной выборки, включая доминирующую сателлитную микробиоту. После фильтрации и выделения целевого MAG GC-состав этого штамма составил 41% (Таблица 2), что соответствует типичным значениям для представителей порядка Nostocales. Степень дупликации прочтений составила от 32,5% (*Nostoc* sp. VKM Al-156) до 51,7% (*Nostoc* sp. VKM Al-310). После биоинформатической фильтрации и деконтаминации для каждого штамма получены метагеномно-ассоциированные геномы (MAG) высокого качества (Таблица 2).

Полнота собранных геномов варьировала от 98,29% (*N. commune* VKM Al-35) до 100% (*Nostoc* sp. VKM Al-115 и *N. minutum* VKM Al-168), при этом уровень контаминации не превышал 4,52% (в сред-

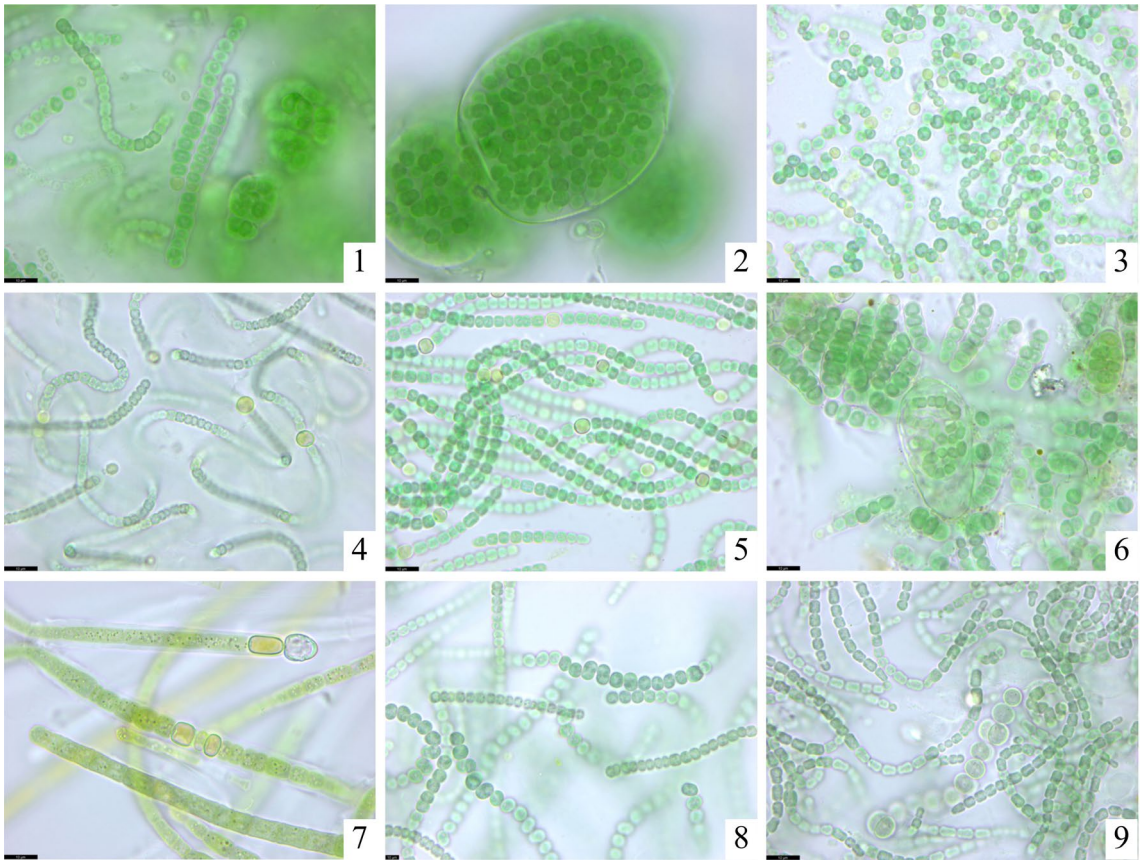


Рис.1. Микрофотографии исследованных штаммов цианобактерий. 1 – *Nostoc commune* VKM Al-35, 2 – *Nostoc punctiforme* VKM Al-37, 3 – *Nostoc* sp. VKM Al-56, 4 – *Nostoc* sp. VKM Al-115, 5 – *Anabaena pirinica* VKM Al-153, 6 – *Nostoc edaphicum* VKM Al-156, 7 – *Hassallia pseudoramosissima* VKM Al-158, 8 – *Nostoc minutum* VKM Al-168, 9 – *Nostoc* sp. VKM Al-310. Шкала 10 мкм.

нем <1%), что соответствует критериям высококачественных MAG. Размеры геномов составляли от 6,32 Мб (*A. pirinica* VKM Al-153) до 9,36 Мб (*N. minutum* VKM Al-168), что находится в диапазоне, характерном для представителей порядка Nostocales. Содержание GC в геномах варьировало от 40 до 42%, за исключением VKM Al-310 (41%). Количество предсказанных CDS составляло от 5477 (*A. pirinica* VKM Al-153) до 8268 (*N. minutum* VKM Al-168). Плотность генов варьировала от 0,787 до 0,824 генов на тысячу пар оснований. Количество контигов в сборках колебалось от 83 (*A. pirinica* VKM Al-153) до 461 (*Nostoc* sp. VKM Al-310), при этом показатель N50, характеризующий непрерывность сборки, варьировал от 46 892 до 126 872 п.н., а максимальная длина контига достигала 421 132 п.н. (*N. punctiforme* VKM Al-37). Таким образом, все полученные MAG соответствовали критериям высокого качества (полнота >98%, контаминация <5%) и пригодны для последующего функционального профилирования и таксономической идентификации (Bowers et al., 2017).

3.3. Филогеномный анализ

Согласно результатам идентификационной процедуры TYGS, все девять штаммов были охарактеризованы как потенциально новые виды, которые могут рассматриваться в качестве кандидатов в новые таксоны, что, однако, требует дальнейшей верификации с привлечением данных по морфологии, физиологии и экологии, а также по мере пополнения референсных баз данных геномами почвенных цианобактерий. На основании межгеномных

Таблица 1. Метрики качества сырых данных секвенирования

Номер штамма VKM Al	Всего прочтений	Всего оснований, Гб	Прочтения с низким качеством	Среднее содержание GC, %	Степень дублирования, %
35	23611455	3,5	0	41	46,7
37	21004509	3,1	0	41	45,4
56	19426989	2,9	0	41	45,4
115	19849606	2,9	0	41	46,7
153	18882848	2,8	0	40	35,6
156	18508027	2,7	0	46	32,5
158	17991330	2,6	0	41	44
168	19855856	2,9	0	41	41,4
310	16122818	2,4	0	65	51,7

Таблица 2. Метрики качества сборки геномов после биннинга и деконтаминации

Номер штамма VKM Al	Степень полноты генома, %	Контаминация, %	Размер генома, Мб	GC, %	Количество CDS	Плотность генов, (генов/Кб)	Количество контигов	N50, п.н.	Макс. длина Контига, п.н.
35	98,29	4,52	8,79	42	7695	0,803	175	122592	349144
37	99,99	0,5	8,37	42	7386	0,803	224	92142	421132
56	99,97	0,19	6,90	41	5949	0,822	121	116923	360614
115	100	0,12	9,17	41	7862	0,812	248	78921	250931
153	99,95	0,5	6,32	40	5477	0,824	83	126872	357633
156	99,98	0,95	7,74	42	6869	0,795	176	81748	403056
158	99,86	0,35	7,41	42	6869	0,792	325	46892	171368
168	100	0,6	9,36	42	8268	0,813	311	77873	314191
310	99,99	0,5	8,21	41	7233	0,787	461	50634	197625

Примечание. CDS – кодирующая последовательность.

GBDP-расстояний было построено филогеномное дерево (Рис. 2), со средней псевдобутстреп-поддержкой ветвей 89,2%, что свидетельствует о высокой надежности топологии дерева.

Анализ филогеномного дерева показал, что штаммы *N. edaphicum* VKM Al-156 и *H. pseudoramosissima* VKM Al-158 формируют общую кладу с высокой поддержкой, что указывает на их близкое родство. Штаммы *N. commune* VKM Al-35, *N. punctiforme* VKM Al-37, *Nostoc* sp. VKM Al-115 и *N. minutum* VKM Al-168 группируются в одну кладу, тогда как *Nostoc* sp. VKM Al-56, *A. pirinica* VKM Al-153

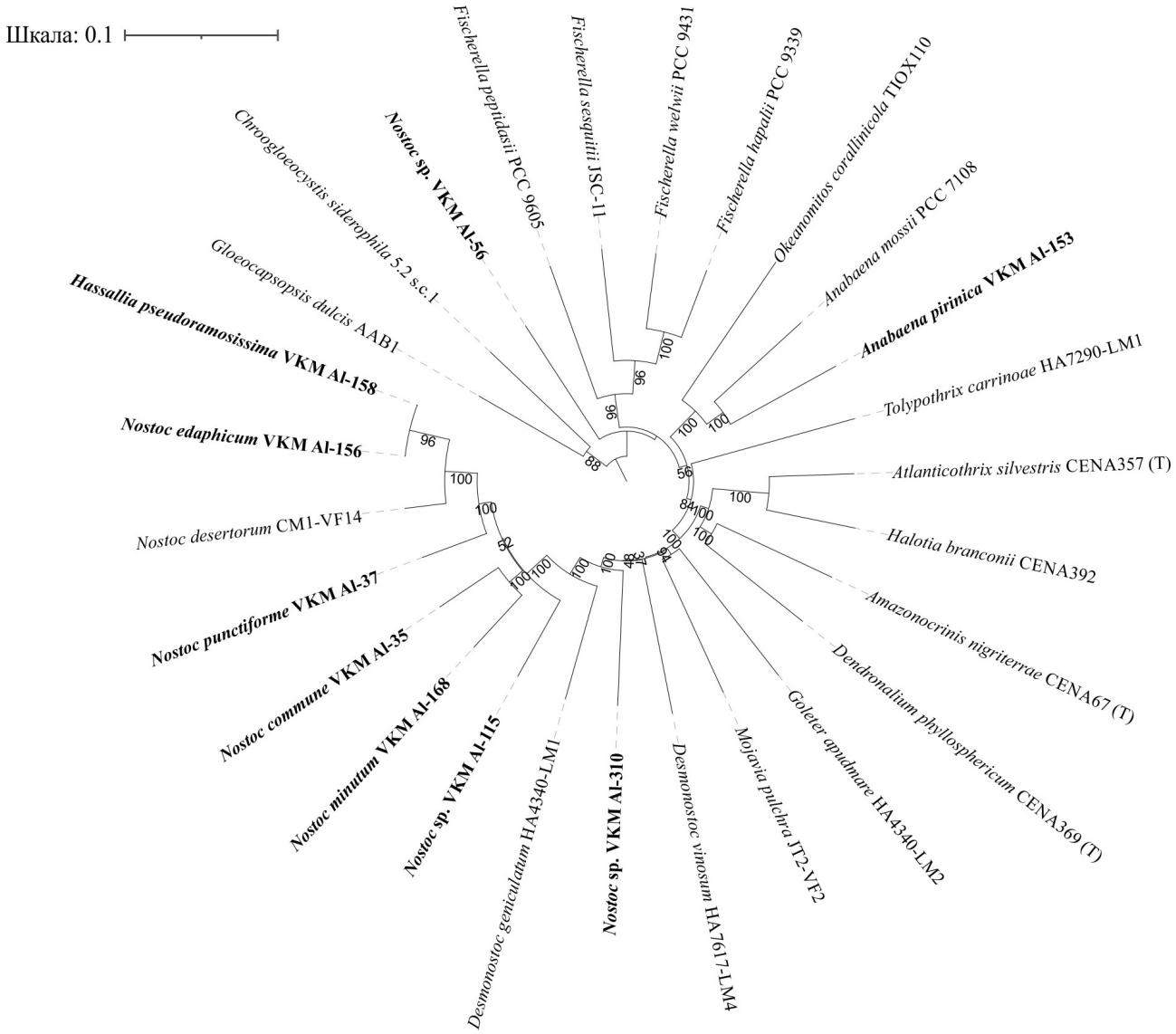


Рис.2. Филогеномное дерево исследуемых штаммов цианобактерий, построенное по данным TYGS.
Примечание. Штаммы ВКМ выделены жирным шрифтом.

и *Nostoc* sp. VKM Al-310 занимают обособленные положения. Следует отметить, что кластеризация на основе полногеномных данных не всегда согласуется с филогенией по 16S рРНК, что, вероятно, обусловлено различиями в разрешающей способности маркеров (Prabha and Singh, 2019; Dvořák et al., 2023).

3.4. Состав сателлитной микробиоты в неаксеничных штаммах цианобактерий

Анализ генов 16S и 23S рРНК, идентифицированных в метагеномных сборках неаксеничных культур цианобактерий, позволил охарактеризовать таксономический состав сопутствующей бактериальной микробиоты (Рис. 3, 4). После фильтрации последовательностей с идентичностью ниже установленных порогов (≥90% для 16S рРНК, ≥89% для 23S рРНК) в исследованных штаммах детектированы сателлитные бактерии, относящиеся к филумам Pseudomonadota (классы Alphaproteobacteria и Gammaproteobacteria) и Bacteroidota (класс Bacteroidia). Распределение сателлитных филумов по штаммам-хозяевам было неравномерным. Наиболее разнообразный состав ассоциированных бактерий отмечен для *N. edaphicum* VKM Al-156, у которого по данным 23S рРНК выявлены представители трех родов филума Pseudomonadota. Штамм *A. pirinica* VKM Al-153 ассоциирован с двумя филумами – Pseudomonadota и Bacteroidota. Штаммы VKM Al-56 и VKM Al-310 содержали представителей филума Pseudomonadota. Штаммы VKM Al-35, VKM Al-37, VKM Al-115, VKM Al-168 и VKM Al-158 не содержали сателлитных таксонов, идентифицированных по маркерным генам с надежной идентичностью.

Для количественной оценки доли сателлитной микробиоты использовали взвешенный по размеру генома подход на основе данных о глубине покрытия и размерах геномов всех бинов, полученных в результате биннинга. Расчет показал, что в трех штаммах (VKM Al-35, VKM Al-37, VKM Al-115) сателлитные бины не были детектированы (доля < 0,5%). В штаммах с выявленной сателлитной микробиотой ее доля варьировала от 2,04% (VKM Al-56) до 95,94% (VKM Al-310). В штамме VKM Al-158 сателлитная бактерия доминировала в культуре (90,84%), в VKM Al-156 и VKM Al-153 ее доля составила 29,59% и 26,21% соответственно, а в VKM Al-168 – 11,19%.

Анализ маркерных рибосомальных генов позволил детально охарактеризовать состав и структуру консервативного ядра гетеротрофной сателлитной микробиоты, локализованной в экзополисахаридных чехлах исследованных культур (Рис. 4). Штамм *A. pirinica* VKM Al-153 характеризовался наличием родов *Pseudoflavitalea* и *Devosia*. У штамма *N. edaphicum* VKM Al-156 были идентифицированы три рода класса Alphaproteobacteria: *Bosea, Brevundimonas* и *Variovorax*. У штамма *Nostoc* sp. VKM Al-56 в метагеномной сборке были обнаружены роды *Brevundimonas* и *Achromobacter*. Особый интерес вызвал профиль штамма *Nostoc* sp. VKM Al-310. Из-за высокой консервативности рибосомальных последовательностей внутри общего семейства Xanthomonadaceae ассоциированный бактериальный контиг этой культуры показал неоднозначную классификацию на разных уровнях биоинформатического разрешения. По данным гена 16S рРНК таксон был отнесен к роду *Xanthomonas* со сходством 90,6%, тогда как анализ гена 23S рРНК позволил уточнить систематику и верифицировать этот биоконтрольный штамм как *Lysobacter* (сходство 96,8%). Для остальных пяти штаммов (VKM Al-35, VKM Al-37, VKM Al-115, VKM Al-158 и VKM Al-168) рибосомальные маркеры сопутствующей микробиоты в метагеномных контигах не были детектированы вовсе.

Важно отметить, что отсутствие детекции сателлитных рибосомальных маркеров или отдельных бинов сопутствующей микробиоты для ряда штаммов не означает полной биологической стерильности данных культур. Подобный результат может быть связан с низким относительным обилием сопутствующих бактерий, недостаточной глубиной секвенирования для их покрытия, либо с тем, что геномы сателлитов не были ассемблированы в отдельные бины в силу фрагментарности данных.

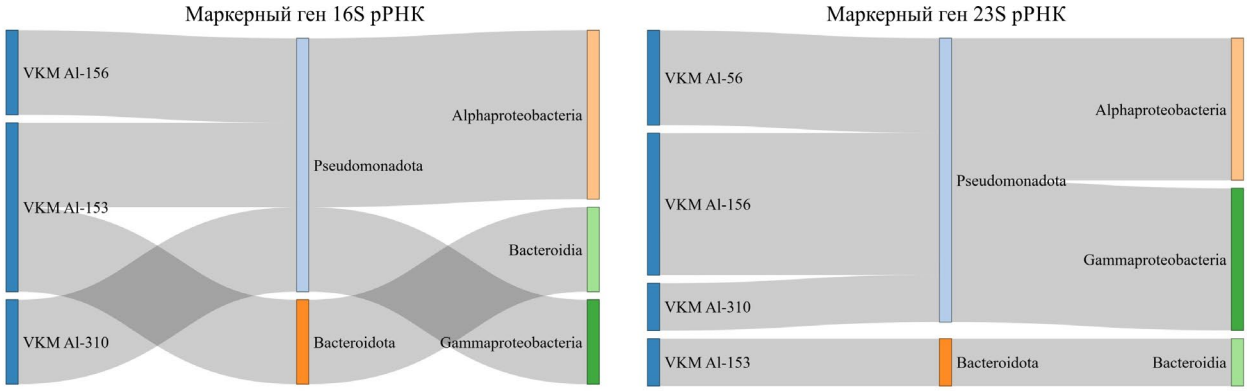


Рис.3. Санкей-диаграммы распределения сателлитных таксонов бактерий по филогенетическим уровням на основе данных 16S и 23S рРНК генов.

Примечание. Ширина потоков пропорциональна числу детектированных таксонов. Штаммы цианобактерий ВКМ выделены синим цветом; другие бактериальные филумы и классы дифференцированы цветовой кодировкой.

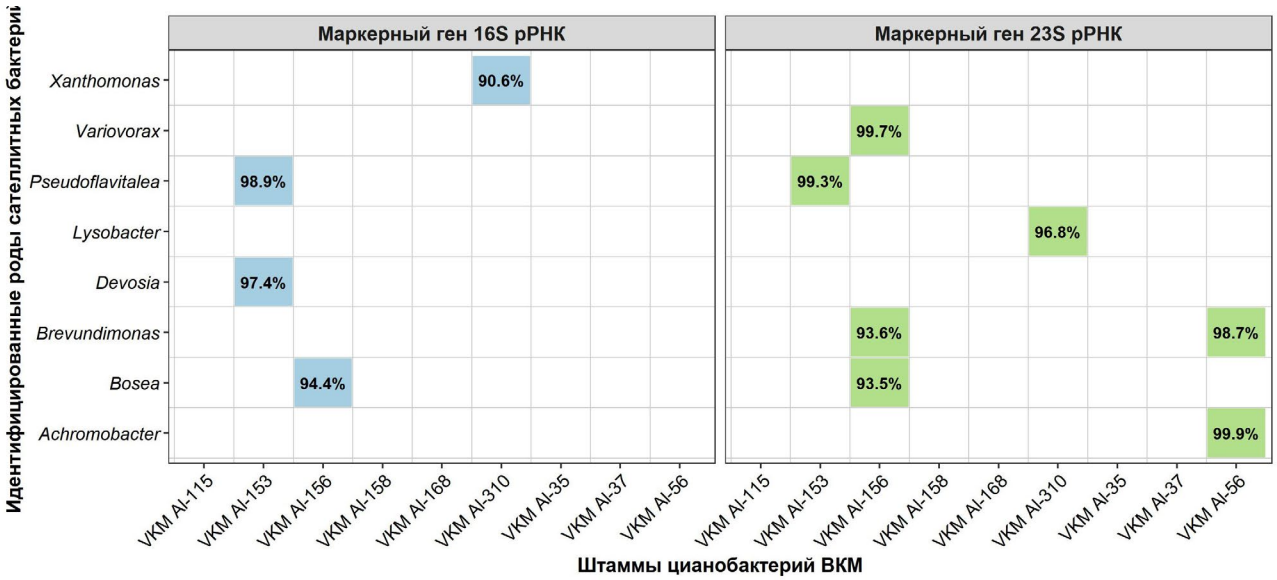


Рис.4. Присутствие сателлитных бактериальных таксонов в неаксеничных штаммах цианобактерий ВКМ по данным генов 16S и 23S рРНК.

Примечание. В ячейках указан процент идентичности последовательности с референсной базой SILVA.

3.5. Общая характеристика функционального профиля геномов

Функциональную аннотацию девяти метагеномно-ассоциированных геномов (MAG) цианобактерий проводили с использованием Prokka в сочетании с KofamScan (KEGG) (Таблица 3).

Общее количество предсказанных генов варьировало от 5701 (*A. pirinica* VKM Al-153) до 8157 (*N. minutum* VKM Al-168). Доля белок-кодирующих генов (CDS) составляла 98,1-99,1% от общего числа предсказанных генов. Количество гипотетических белков, для которых не удалось определить функцию, колебалось от 2337 (*A. pirinica* VKM Al-153) до 3011 (*N. minutum* VKM Al-168). Число генов с идентифицированной ферментативной функцией составило от 1115 (*A. pirinica* VKM Al-153) до 1397 (*N. minutum* VKM Al-168), что соответствует 17,8-19,6% от общего числа предсказанных генов. Полученные данные свидетельствуют о типичном для представителей порядка Nostocales функциональном репертуаре, при этом различия в количестве предсказанных генов и аннотированных функций отражают таксономическое разнообразие исследованных штаммов. Полные функциональные профили по аннотации KEGG и RAST для всех девяти исследуемых геномов приведены в таблицах S1 и S2 соответственно.

3.6. Анализ агробиотехнологического потенциала штаммов

Комплексный сравнительный анализ функциональных профилей исследуемых геномов позволил распределить метаболические пути по ключевым агрономически значимым категориям и выявить выраженную специализацию штаммов (Рис. 5, Таблица S1, S2).

Максимальное число генов у всех исследованных цианобактерий ожидаемо сосредоточено в блоках общего метаболизма и клеточной сигнализации. В частности, наиболее репрезентативными оказались регуляторные пути «Метаболизм углеводов» (от 311 у штамма VKM Al-153 до 417 у VKM

Таблица 3. Результаты функциональной аннотации геномов по данным Prokka и KofamScan.

Номер штамма VKM Al	Количество предсказанных генов	Количество белок-кодирующих генов	Количество не гипотетических белков	Количество генов, для которых определена ферментативная функция
35	7680	7583	2995	1367
37	7361	7268	2950	1345
56	5998	5904	2637	1224
115	7834	7741	2995	1394
153	5701	5650	2337	1115
156	6858	6786	2759	1288
158	6613	6544	2614	1214
168	8157	8063	3011	1397
310	7031	6943	2933	1358

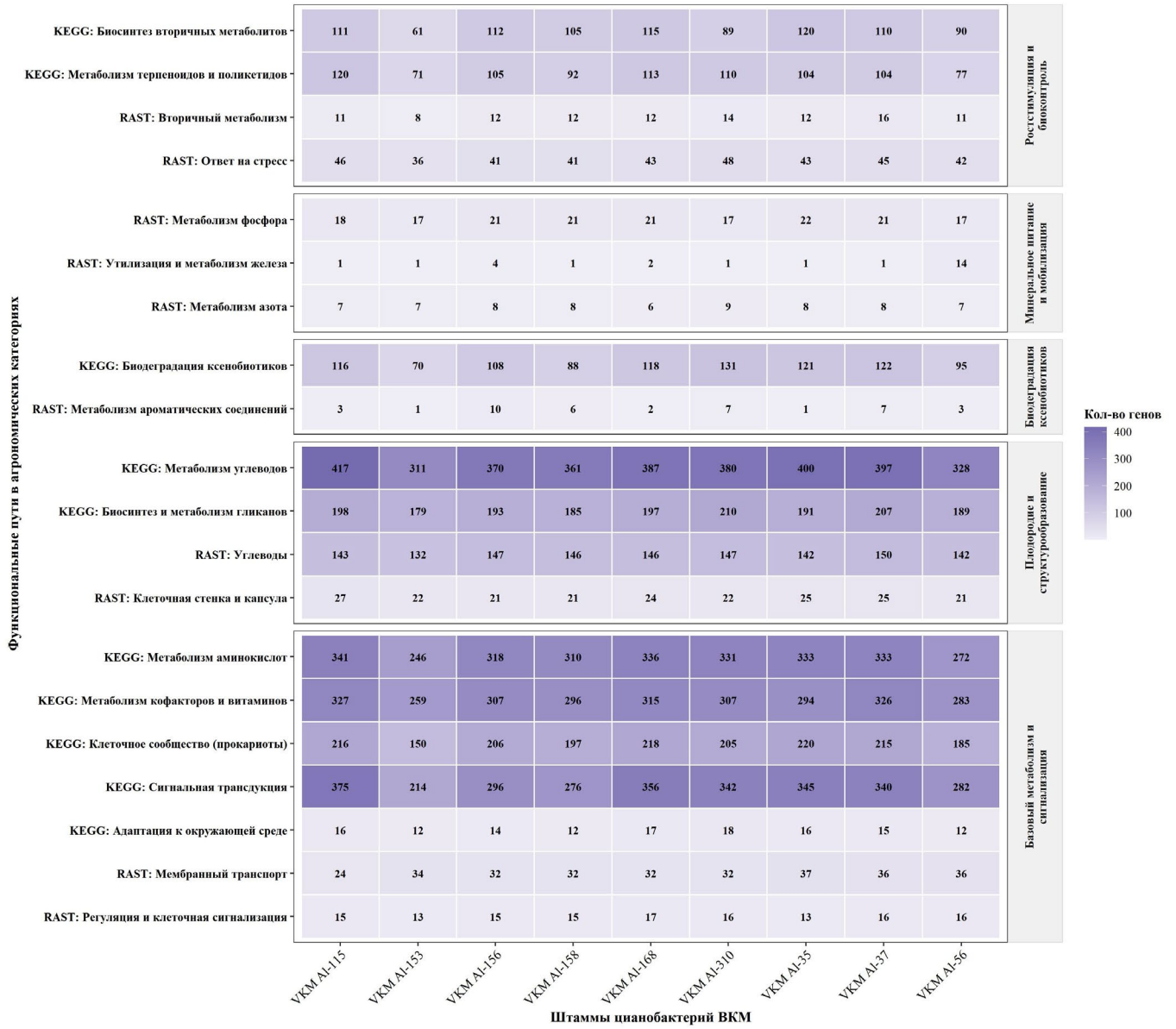


Рис.5. Тепловая карта представленности генов в агрономически значимых функциональных категориях в геномах исследованных штаммов цианобактерий.

Al-115) и «Метаболизм аминокислот» (от 246 у VKM Al-153 до 341 у VKM Al-115). Подобная избыточность фундаментальных путей отражает высокие энергетические и пластические потребности фотоавтотрофных микроорганизмов. Примечательно, что высокая насыщенность генами углеводного обмена и биосинтеза гликанов у штаммов рода *Nostoc* (в первую очередь VKM Al-115) генетически определяет их способность к активному формированию экзополисахаридного матрикса, играющего ключевую роль в структурообразовании почвы и защите ризосферы от высыхания. Категории, формирующие блок «Стимуляция роста растений и биоконтроль фитопатогенов», представлены умеренно. Так, пути «Биосинтез вторичных метаболитов» и «Метаболизм терпеноидов и поликетидов» включают от 61 до 120 и от 71 до 120 генов соответственно. Наибольший потенциал к синтезу антимикробных соединений и нерибосомальных пептидов, вовлеченных в супрессию фитопатогенов, наблюдается у штаммов VKM Al-115 и VKM Al-168. Интересно, что эти же штаммы демонстрируют и самые высокие показатели регуляторных систем, включая «Сигнальную трансдукцию» (375 и 356 генов), «Метаболизм кофакторов и витаминов» (327 и 315 генов) и «Адаптацию к окружающей среде» (16 и 17 генов соответственно), что может указывать на их высокую лабильность и конкурентоспособность при колонизации растительных тканей. В блоке минерального питания у всех изученных культур обнаружен полный функциональный кластер генов азотфиксации (*nif*-кластер), а также развитый комплекс генов мобилизации фосфатов (включая фитазы, фосфатазы и специализированные транспортные системы). Однако в отношении метаболизма железа выявлена определенная специфика: штамм VKM Al-56 резко выделяется на общем фоне наличием 14 генов утилизации и транспорта железа (сидерофоров), тогда как у остальных исследованных штаммов этот показатель варьирует в пределах всего 1-4 генов. Это позволяет рассматривать VKM Al-56 в качестве возможного агента для преодоления железодефицита в агроценозах.

4. Обсуждение

В настоящей работе на основе глубокого метагеномного секвенирования неаксеничных культур получены метагеномно-ассоциированные геномы девяти штаммов цианобактерий порядка Nostocales, выделенных из различных почвенно-климатических зон европейской части России. Использованный подход подтвердил свою эффективность для работы с неаксеничными штаммами и позволил провести полноценный таксономический и функциональный анализ без этапа аксенизации, которая для цианобактерий представляет собой крайне сложную задачу из-за медленного роста и тесных метаболических связей с сопутствующей микробиотой (Wu et al., 2025). Полученные MAG высокого качества обеспечили надежную основу для таксономической идентификации и функционального профилирования. Результаты анализа на сервере TYGS показали, что все девять штаммов представляют собой потенциально новые виды, что согласуется с данными о недостаточной изученности почвенных цианобактерий, но может быть обусловлено также дефицитом референсных геномов в международных базах генетической информации. Отметим, что кластеризация на основе полногеномных данных не всегда согласуется с филогенией по гену 16S рРНК, что, вероятно, обусловлено различиями в разрешающей способности этих подходов (Prabha and Singh, 2019; Dvořák et al., 2023).

Морфологические наблюдения подтвердили наличие развитых слизистых чехлов у всех исследованных штаммов. Согласно мультиомиксным моделям ризосферных взаимодействий, интенсивное производство ЭПС позволяет микробным консорциумам удерживать влагу у корней, оптимизировать обмен метаболитами и защищать партнеров в условиях окислительного и осмотического стресса (Costa et al., 2018; Kimotho and Maina, 2024). Развитый ЭПС-аппарат также выполняет биомеханическую функцию, повышая противоэрозионную стойкость почв (Chamizo et al., 2018). Наибольший потенциал к формированию ЭПС-матрикса, согласно числу генов биосинтеза гликанов, продемонстрировали штаммы *Nostoc* sp. VKM Al-115 и *N. minutum* VKM Al-168, что делает их предпочтительными кандидатами для применения в почвах, подверженных эрозии и деградации.

Широкий спектр почвенно-климатических условий, из которых были изолированы исследованные штаммы, позволяет предполагать наличие у них генетических адаптаций к различным стрессовым факторам – засолению, засухе, дефициту питательных веществ. Это делает их перспективными кандидатами для разработки биопрепаратов, эффективных в широком диапазоне агроэкологических условий, что особенно актуально для почв южных регионов России, подверженных деградации (Chen et al., 2025). Биоинформационный анализ позволяет предположить наличие определенной связи между экологическими особенностями мест происхождения штаммов и функциональным профилем. В частности, изоляция штаммов *N. commune* VKM Al-35 и *N. punctiforme* VKM Al-37 из солонцовых почв Волгоградской области совпадает с фиксацией у них наиболее высоких показателей по путям углеводного и аминокислотного обменов. Это может указывать на развитый генетический потенциал к синтезу внутриклеточных осмопротекторов, необходимых для выживания при повышенном осмотическом давлении. Напротив, адаптация к засушливым условиям полупустынных почв Республики Калмыкия могла стимулировать формирование у штамма *H. pseudoramosissima* VKM Al-158 сопряженного аппарата биосинтеза фитогормонов трех ключевых классов (ауксинов, цитокининов и гиббереллинов), а у штамма *N. edaphicum* VKM Al-156 – кассет, потенциально вовлеченных в деградацию ароматических соединений. Сходные тренды прослеживаются и для других южных изолятов. Так, происхождение штамма *A. pirinica* VKM Al-153 из луговой почвы сопряжено с фиксацией максимального для исследованной выборки числа генов сигнальной трансдукции, что теоретически может обеспечивать ему более высокую чувствительность к корневым экссудатам при колонизации ризосферы. Специфика каштановых почв сухой степи, характеризующихся жестким дефицитом влаги, может объяснять обогащение генома штамма *N. minutum* VKM Al-168 путями синтеза терпеноидов и поликетидов, потенциально участвующих в межвидовой конкуренции. Штаммы *Nostoc* sp. VKM Al-115 (Тульская область) и *Nostoc* sp. VKM Al-56 (Московская область), выделенные из лесных почв, демонстрируют повышенную представленность углеводных и железо-транспортных путей.

Функциональное профилирование геномов выявило у всех штаммов полный кластер генов азотфиксации (*nif*-кластер) и развитые системы мобилизации фосфатов, что является ключевым преимуществом цианобактерий как агробиотехнологических агентов (Sharma et al., 2013; Chen et al., 2025). Высокая представленность генов сигнальной трансдукции и мембранного транспорта указывает на способность эффективно распознавать корневые экссудаты, мигрировать в ризосферу и утилизировать органические соединения, выделяемые растением (Santos-Merino et al., 2019; Li et al., 2024). Штамм VKM Al-56 выделяется наличием 14 генов метаболизма железа (сидерофоры), что обеспечивает конкурентное преимущество за счет ограничения доступности железа для фитопатогенов (Krishnan et al., 2025). Выявленный у *N. edaphicum* VKM Al-156 аппарат метаболизма ароматических соединений указывает на возможный потенциал для детоксикации гербицидов и биологической очистки агроэкосистем (Książek-Trela et al., 2025). Использование неаксеничных культур минимизирует углеродное бремя на растение, поскольку фототрофный остов самостоятельно обеспечивает трофические потребности сателлитных PGPB-«помощников» (Palkina et al., 2025). Согласно современным представлениям, разделение труда между хозяином и сателлитами ускоряет минерализацию ароматических структур в почве (Raj and Shahid, 2026).

Ключевым аспектом данного исследования является то, что неаксеничные культуры цианобактерий с их естественным бактериальным окружением могут концептуально рассматриваться в качестве природных прототипов и биологических моделей искусственных микробных сообществ. В таких системах фототрофный хозяин выступает в роли ключевого вида (*keystone species*), ответственного за первичную фиксацию элементов и наработку экзополисахаридного матрикса, тогда как гетеротрофные сателлиты выполняют функции видов-помощников (*helper species*), защищающих консорциум от патогенов и повышающих его ризосферный фитнес (Li et al., 2024). Анализ сателлитной микробиоты выявил присутствие бактерий филумов Pseudomonadota и Bacteroidota. Идентификация бактерий, стимулирующих рост растений, из родов *Lysobacter, Devosia* и *Achromobacter* согласуется с современными представлениями об их важной роли в качестве функциональных помощников в ризосфере. Присутствие родов *Lysobacter* и *Devosia* традиционно связывают с механизмами индукции системной устойчивости растений и биоконтроля патогенов (Abbasi et al., 2021). В ризосфере и почвенных консорциумах виды рода *Lysobacter* способны активно подавлять рост грибных фитопатогенов за счет продукции широкого спектра внеклеточных литических ферментов (Gómez Expósito et al., 2015), а представители *Devosia* эффективно нивелируют негативные последствия абиотических стрессов и повышают силу проростков (Monjezi et al., 2023). Участие *Achromobacter* и *Brevundimonas* в метаболизме консорциумов вносит существенный вклад в круговорот элементов питания. Штаммы *Achromobacter* дополняют общую модель разделения метаболического труда внутри микробных систем за счёт высокой фосфатмобилизующей активности (Ma et al., 2011; Zhang et al., 2026). В свою очередь, ассоциированные бактерии рода *Brevundimonas* демонстрируют выраженную синергетическую активность в составе комплексных биостимуляторов, не только интенсифицируя продукцию ауксинов и мобилизацию фосфора (Mukherjee et al., 2022), но и осуществляя биологическую азотфиксацию (Naqqash et al., 2020), что напрямую ускоряет развитие корневой системы и рост биомассы хозяев.

В соответствии с гипотезой устойчивости за счет разнообразия, максимальный биоконтрольный потенциал и стабильное проявление комплексных прикладных признаков в ризосфере зависят от синергетических межвидовых взаимодействий на уровне всего консорциума, а не изолированных монокультур (Niu et al., 2017; Trivedi et al., 2020). Это теоретически обосновывает прикладную ценность неаксеничных культур цианобактерий как естественных прототипов искусственных микробных сообществ, делая отбор таких многофункциональных природных ассоциаций приоритетным направлением для современных агробиотехнологий.

В то же время комплексное *de novo* профилирование (MAG-подход) позволяет не только эффективно разрешать проблемы полифазной таксономии почвенных цианобактерий (Sudianto et al., 2026), но и детально охарактеризовать состав ассоциированной микробиоты, играющей ключевую роль в функциональной стабильности и биотехнологическом потенциале почвенных консорциумов (Garcia et al., 2025; Palmer et al., 2025).

Несмотря на высокую значимость полученных результатов, настоящее исследование имеет ряд ограничений. Функциональная характеристика штаммов основана исключительно на биоинформатическом прогнозировании *in silico*. Хотя присутствие таких детерминант, как *nif*-кластеры или пути биосинтеза фитогормонов, указывает на метаболический потенциал штаммов, их фактическая экспрессия и прикладная эффективность *in vivo* в значительной степени зависят от динамических почвенно-климатических факторов, корневых экссудатов растений и сложных эпигенетических регуляторных сетей. Дополнительным вызовом при переходе от лабораторных моделей к реальным агроэкосистемам остается полевая стабильность консорциумов: ассоциативные диазотрофы неизбежно сталкиваются с жесткой конкуренцией со стороны нативного почвенного микробиома за трофические ресурсы и экологические ниши колонизации корней. Наконец, существенным ограничением современных методов аннотации является высокая доля неклассифицированных генов и гипотетических белков, количество которых в исследованных геномах значительно превышает число функционально охарактеризованных CDS. Это указывает на то, что реальный биотехнологический и метаболический потенциал изученных аборигенных штаммов может быть существенно выше выявленного, однако его точная идентификация в настоящее время лимитирована фрагментарностью референсных баз данных генетической информации для почвенных цианобактерий.

5. Заключение

В результате проведенного исследования осуществлена комплексная геномная паспортизация девяти неаксеничных штаммов почвенных цианобактерий порядка Nostocales из Всероссийской коллекции микроорганизмов с использованием подходов полногеномного анализа метагеномов. Применение стратегии *de novo* метагеномной сборки и последующего биоинформатического биннинга позволило реконструировать высококачественные геномы целевых фототрофных штаммов, минуя классический этап получения чистых изолированных линий. Филогеномный анализ выявил высокую степень обособленности исследованного фонда, что позволяет рассматривать данные штаммы в качестве кандидатов в новые виды. Тем не менее, наблюдаемая новизна может быть частично обусловлена текущей фрагментарностью глобальных баз данных и дефицитом референсных последовательностей почвенных цианобактерий. Профилирование маркерных рибосомальных генов выявило присутствие гетеротрофных бактерий родов *Devosia*, *Lysobacter*,

Brevundimonas, *Variovorax*, *Bosea*, *Achromobacter* и *Pseudoflavitalea*, что подтверждает наличие в неаксеничных цианобактериальных культурах таксонов, обладающих выраженными ростостимулирующими и биоконтрольными свойствами. Скрининг агробиотехнологического потенциала подтвердил наличие универсального генетического базиса азотфиксации и систем мобилизации фосфора у всех девяти изученных штаммов. На основании интегрального анализа геномных профилей на наличие ключевых агрономически ценных признаков (способность к синтезу фитогормонов, азотфиксации, мобилизации фосфатов, защите от патогенов и устойчивости к абиотическим стрессам), а также учитывая таксономическое и биогеографическое разнообразие, штаммы *A. pirinica* VKM Al-153, *H. pseudoramosissima* VKM Al-158 и *Nostoc* sp. VKM Al-115 были определены как перспективные кандидаты для проведения дальнейших вегетационных экспериментов в целях создания стабильных биопрепаратов нового поколения.

Благодарности

Авторы выражают глубокую признательность к.б.н., с.н.с. лаборатории геносистематики ЛИН СО РАН Ю.С. Букину за ценные консультации и помощь при подготовке данной работы.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда в рамках проекта №25-26-00311.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

Abo-Shady A.M., Osman M.E.A.H., Gaafar R.M. et al. 2023. Cyanobacteria as a valuable natural resource for improved agriculture, environment, and plant protection. Water, Air, & Soil Pollution 234: 313. DOI: 10.1007/s11270-023-06331-7

Abbasi S., Spor A., Sadeghi A. et al. 2021. Streptomyces strains modulate dynamics of soil bacterial communities and their efficacy in disease suppression caused by *Phytophthora capsici*. Scientific Reports 11: 9317. DOI: 10.1038/s41598-021-88495-y

Altschul S.F., Gish W., Miller W. et al. 1990. Basic local alignment search tool. Journal of Molecular Biology 215(3): 403–410. DOI: 10.1016/S0022-2836(05)80360-2

Aramaki T., Blanc-Mathieu R., Endo H. et al. 2020. KofamKOALA: KEGG Ortholog assignment based on profile HMM and adaptive score threshold. Bioinformatics 36: 2251–2252. DOI: 10.1093/bioinformatics/btz859

Aziz R.K., Bartels D., Best A.A. et al. 2008. The RAST Server: rapid annotations using subsystems technology. BMC Genomics 9: 75. DOI: 10.1186/1471-2164-9-75

Bankevich A., Nurk S., Antipov D. et al. 2012. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. Journal of Computational Biology 19: 455–477. DOI: 10.1089/cmb.2012.0021

Bowers R.M., Kyrpides N.C., Stepanauskas R. et al. 2017. Minimum information about a single amplified genome (MISAG) and a metagenome-assembled genome (MIMAG) of bacteria and archaea. Nature Biotechnology 35: 725–731. DOI: 10.1038/nbt.3893

Brettin T., Davis J.J., Disz T. et al. 2015. RASTtk: a modular and extensible implementation of the RAST algorithm for building custom annotation pipelines and annotating batches of genomes. Scientific Reports 5: 8365. DOI: 10.1038/srep08365

Camacho C., Coulouris G., Avagyan V. et al. 2009. BLAST+: architecture and applications. BMC Bioinformatics 10: 421. DOI: 10.1186/1471-2105-10-421

Chamizo S., Mugnai G., Rossi F. et al. 2018. Cyanobacteria inoculation improves soil stability and fertility on different textured soils: gaining insights for applicability in soil restoration. Frontiers in Environmental Science 6: 49. DOI: 10.3389/fenvs.2018.00049

Chen J., Wang L., Wei X. et al. 2025. Engineering of plant growth-promoting bacteria for sustainable nutrient management and agricultural sustainability. Journal of Integrative Agriculture 25(5): 2178–2182. DOI: 10.1016/j.jia.2025.10.021

Chklovski A., Parks D.H., Woodcroft B.J. et al. 2023. CheckM2: a rapid, scalable and accurate tool for assessing microbial genome quality using machine learning. Nature Methods 20: 1203–1212. DOI: 10.1038/s41592-023-01940-w

Costa O.Y.A., Raaijmakers J.M., Kuramae E.E. 2018. Microbial extracellular polymeric substances: ecological function and impact on soil aggregation. Frontiers in Microbiology 9: 1636. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01636

Dvořák P., Jahodářová E., Stanojković A. et al. 2023. Population genomics meets the taxonomy of cyanobacteria. Algal Research 72: 103128. DOI: 10.1016/j.algal.2023.103128

Freese H.M., Meier-Kolthoff J.P., Sardà Carbasse J. et al. 2025. TYGS and LPSN in 2025: a Global Core Biodata Resource for genome-based classification and nomenclature of prokaryotes within DSMZ Digital Diversity. Nucleic Acids Research 54(D1): D884–D891. DOI: 10.1093/nar/gkaf1110

Garcia M., Bruna P., Duran P. et al. 2025. Cyanobacteria and Soil Restoration: Bridging Molecular Insights with Practical Solutions. Microorganisms 13(7): 1468. DOI: 10.3390/microorganisms13071468

Gómez Expósito R., Postma J., Raaijmakers J.M. et al. 2015. Diversity and Activity of Lysobacter Species from Disease Suppressive Soils. Frontiers in Microbiology 6: 1243. DOI: 10.3389/fmicb.2015.01243

Gurevich A., Saveliev V., Vyahhi N. et al. 2013. QUAST: quality assessment tool for genome assemblies. Bioinformatics 29: 1072–1075. DOI: 10.1093/bioinformatics/btt086

Hackmann T.J. 2025. Setting new boundaries of 16S rRNA gene identity for prokaryotic taxonomy. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 75(4): 006747. DOI: 10.1099/ijsem.0.006747

Jones M.R., Pinto E., Torres M.A. et al. 2021. CyanoMetDB, a comprehensive public database of secondary metabolites from cyanobacteria. Water Research 196: 117017. DOI: 10.1016/j.watres.2021.117017

Kanehisa M., Furumichi M., Sato Y. et al. 2023. KEGG for taxonomy-based analysis of pathways and genomes. Nucleic Acids Research 51: D587–D592. DOI: 10.1093/nar/gkac963

Kimotho R.N., Maina S. 2024. Unraveling plant–microbe interactions: can integrated omics approaches offer concrete answers? Journal of Experimental Botany 75(5): 1289–1313. DOI: 10.1093/jxb/erad448

Komárek J. 2013. Cyanoprokaryota 3: Heterocytous Genera. In: Büdel B., Gärtner G., Krienitz L., Schagerl M. (Eds.). Süsswasserflora von Mitteleuropa. V. 19/3. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag.

Kouidhi S., Passmore J.A.S., Setati M.E. et al. 2025. Bridging data gaps: African reference genomes advancing inclusive microbiome research. Trends in Microbiology 33(5): 479–482. DOI: 10.1016/j.tim.2025.02.001

Krishnan K.S., Rangasamy A., Arunan Y.E. et al. 2025. Microbial inoculants – fostering sustainability in groundnut production. Science Progress 108(2): 1–39. DOI: 10.1177/00368504251338943

Książek-Trela P., Potocki L., Szpyrka E. 2025. The impact of novel bacterial strains and their consortium on diflufenican degradation in the mineral medium and soil. Scientific Reports 15(1): 18051. DOI: 10.1038/s41598-025-02696-3

Lagesen K., Hallin P. 2007. RNAmmer: consistent and rapid annotation of ribosomal RNA genes. Nucleic Acids Research 35: 3100–3108. DOI: 10.1093/nar/gkm160

Lefort V., Desper R., Gascuel O. 2015. FastME 2.0: A comprehensive, accurate, and fast distance-based phylogeny inference program. Molecular Biology and Evolution 32: 2798–2800. DOI: 10.1093/molbev/msv150

Letunic I., Bork P. 2021. Interactive Tree Of Life (iTOL) v5: an online tool for phylogenetic tree display and annotation. Nucleic Acids Research 49(W1): W293-W296. DOI: 10.1093/nar/gkab301

Li J., Li C., Smith S.M. 2017. Hormone Metabolism and Signaling in Plants. Academic Press Elsevier: London, UK. DOI: 10.1016/B978-0-12-811562-6.00001-3

Li M., Hu J., Wei Z. et al. 2024. Synthetic microbial communities: Sandbox and blueprint for soil health enhancement. iMeta 3: e172. DOI: 10.1002/imt2.172

Ma Y., Prasad M.N.V., Rajkumar M. et al. 2011. Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phytoremediation of metalliferous soils. Biotechnology Advances 29(2): 248–258. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2010.12.001

Meier-Kolthoff J.P., Auch A.F., Klenk H.-P. et al. 2013. Genome sequence-based species delimitation with confidence intervals and improved distance functions. BMC Bioinformatics 14: 60. DOI: 10.1186/1471-2105-14-60

Meier-Kolthoff J.P., Göker M. 2019. TYGS is an automated high-throughput platform for state-of-the-art genome-based taxonomy. Nature Communications 10: 2182. DOI: 10.1038/s41467-019-10210-3

Meier-Kolthoff J.P., Sardà Carbasse J., Peinado-Olarte R.L. et al. 2022. TYGS and LPSN: a database tandem for fast and reliable genome-based classification and nomenclature of prokaryotes. Nucleic Acids Research 50: D801-D807. DOI: 10.1093/nar/gkab902

Monjezi N., Yaghoubian I., Smith D.L. 2023. Cell-free supernatant of Devosia sp. (strain SL43) mitigates the adverse effects of salt stress on soybean (Glycine max L.) seed vigor index. Frontiers in Plant Science 14: 1071346. DOI: 10.3389/fpls.2023.1071346

Mukherjee A., Singh S., Gaurav A.K. et al. 2022. Harnessing of phytomicrobiome for developing potential biostimulant consortium for enhancing the productivity of chickpea and soil health under sustainable agriculture. Science of the Total Environment 836: 155550. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2022.155550

Naqqash T., Imran A., Hameed S. et al. 2020. First report of diazotrophic Brevundimonas spp. as growth enhancer and root colonizer of potato. Scientific Reports 10: 12893. DOI: 10.1038/s41598-020-69782-6

Niu B., Paulson J.N., Zheng X. et al. 2017. Simplified and representative bacterial community of maize roots. Proceedings of the National Academy of Sciences 114(12): E2450-E2459. DOI: 10.1073/pnas.1616148114

Overbeek R., Olson R., Pusch G.D. et al. 2014. The SEED and the Rapid Annotation of microbial genomes using Subsystems Technology (RAST). Nucleic Acids Research 42: D206–D214. DOI: 10.1093/nar/gkt1226

Palkina K.A., Choob V.V., Yampolsky I.V. et al. 2025. Pros and Cons of Interactions Between Crops and Beneficial Microbes. Agriculture 15(12): 2526. DOI: 10.3390/agriculture15242526

Palmer B., Couradeau E.M., Johansen J.R. et al. 2025. Unraveling the diversity and functional potential of cyanosphere microbiomes assembled from terrestrial cyanobacteria. bioRxiv. DOI: 10.1101/2025.06.10.658773

Prabha R., Singh D.P. 2019. Cyanobacterial phylogenetic analysis based on phylogenomics approaches render evolutionary diversification and adaptation: an overview of representative orders. 3 Biotech 9(3): 87. DOI: 10.1007/s13205-019-1635-6

Quast C., Pruesse E., Yilmaz P. et al. 2013. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. Nucleic Acids Research 41(Database issue): D590–596. DOI: 10.1093/nar/gks1219

Raj A., Shahid M. 2026. In-silico-driven SynCom engineering with cyanobacteria for efficient pesticide degradation: A review. Algal Research 95: 104636. DOI: 10.1016/j.algal.2026.104636

Santos-Merino M., Singh A.K., Ducat D.C. 2019. New applications of synthetic biology tools for cyanobacterial metabolic engineering. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology 7: 33. DOI: 10.3389/fbioe.2019.00033

Seemann T. 2014. Prokka: rapid prokaryotic genome annotation. Bioinformatics 30: 2068–2069. DOI: 10.1093/bioinformatics/btu153

Sharma S.B., Sayyed R.Z., Trivedi M.H. et al. 2013. Phosphate solubilizing microbes: Sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. SpringerPlus 2: 587. DOI: 10.1186/2193-1801-2-587

Shayanthan A., Ordoñez P.A.C., Oresnik I.J. 2022. The Role of Synthetic Microbial Communities (SynCom) in Sustainable Agriculture. Frontiers in Agronomy 4: 896307. DOI: 10.3389/fagro.2022.896307

Singh J.S., Kumar A., Rai A.N. et al. 2016. Cyanobacteria: A Precious Bio-resource in Agriculture, Ecosystem, and Environmental Sustainability. Frontiers in Microbiology 7: 529. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00529

Sudianto E., Shlafstein M.D., Durieu B. et al. 2026. Taxonomic description of cyanobacteria from extreme habitats through genome-based classification. Frontiers in Microbiology 17: 1824103. DOI: 10.3389/fmicb.2026.1824103

Temraleeva A.D., Sinetova M.A., Gabrielyan D.A. et al. 2025. Cyanobacteria for Plant Growth Promotion: From Taxon and Metabolite Diversity to Large-Scale Cultivation and Agricultural Applications. Biologia et Biotechnologia 3: 1. DOI: 10.61847/pbcras.bbt.2025.3.1

Trivedi P., Leach J.E., Tringe S.G. et al. 2020. Plant–microbiome interactions: from community assembly to plant health. Nature Reviews Microbiology 18(11): 607–621. DOI: 10.1038/s41579-020-0412-1

Whitton B.A., Potts M. 2012. Ecology of Cyanobacteria II: Their Diversity in Space and Time. Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, The Netherlands. DOI: 10.1007/978-94-007-3855-3

Wood D.E., Lu J., Langmead B. 2019. Improved metagenomic analysis with Kraken 2. Genome Biology 20: 257. DOI: 10.1186/s13059-019-1891-0

Wu D., Seshadri R., Kyrpides N.C. et al. 2025. A metagenomic perspective on the microbial prokaryotic genome census. Science Advances 11(3): eadq2166. DOI: 10.1126/sciadv.adq2166

Wu Y.W., Simmons B.A., Singer S.W. 2016. MaxBin 2.0: an automated binning algorithm to recover genomes from multiple metagenomic datasets. Bioinformatics 32: 605–607. DOI: 10.1093/bioinformatics/btv638

Yanti Y., Hamid H., Reflin. 2021. Development of the PGPR and Cyanobacteria Consortium for Growth Promotion and Control *Ralstonia syzigii* subsp. *indonesiensis* of Tomato. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 709(1): 012085. DOI: 10.1088/1755-1315/709/1/012085

Zhang Y., Jing M., Lyu L. et al. 2026. Principles for Rigorous Design and Application of Synthetic Microbial Communities. Advanced Science 13(1): e14750. DOI: 10.1002/advs.202514750

Zimenkov D., Ushtanit A. 2025. Comparative Analysis of Evolutionary Distances Using the Genus *Mycobacterium*. International Journal of Molecular Sciences 26(21): 10471. DOI: 10.3390/ijms262110471

Original Article
LIMNOLOGY FRESHWATER BIOLOGY

New strains of green microalgae from extreme environments in Crimea: identification using an integrative taxonomic approach

Dantsyuk N.V.[1]*, Mansurova I.M.[1], Degtyar I.V.[2], Kuleshova O.N.[1], Drobeckaya I.V.[1], Bocharova E.A.[1], Lishaev V.N.[1], Kirin M.P.[1], Krivenko O.V.[1]

[1] *A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS, 2 Nakhimov Ave., Sevastopol, 299011, Russia*
[2] *Sevastopol State University, 3 Universitetskaya St., Sevastopol, 299053, Russia*

ABSTRACT. This study was conducted as part of a project to establish a bioresource collection of carotenogenic microalgae from the Crimean region with the aim of identifying promising strains adapted to the climatic conditions of southern Russia. A large-scale sampling campaign was carried out in extreme habitats of the western and south-eastern parts of the peninsula, resulting in the isolation and characterization of five novel strains of green algae. Taxonomic identification was performed using an integrative approach that combined analysis of life cycle traits, morphological characterization by light and scanning electron microscopy, and phylogenetic analysis of the nuclear ribosomal DNA region (ITS1–5.8S–ITS2). The strains were assigned to four genera within the classes Chlorophyceae (*Coelastrella thermophila* IBSS-98, *Tetradesmus obliquus* IBSS-164, *Desmodesmus multivariabilis* IBSS-167 and IBSS-171) and Trebouxiophyceae (*Dictyosphaerium ehrenbergianum* IBSS-163). All strains represent species new to the IBSS collection and were obtained in pure culture from the Crimean algal flora for the first time. The broad range of biotechnological applications for these strains – from environmental remediation to production of high-value compounds for the pharmaceutical, cosmetic, and food industries, as well as biofuels – highlights the importance of further research and supports the potential for regional economic development.

Keywords: microalgae, culture collection, phylogenetic analysis, integrative approach, *Coelastrella thermophila*, *Tetradesmus obliquus*, *Desmodesmus multivariabilis*, *Dictyosphaerium ehrenbergianum*, biotechnology

For citation: Dantsyuk N.V., Mansurova I.M., Degtyar I.V., Kuleshova O.N., Drobeckaya I.V., Bocharova E.A., Lishaev V.N., Kirin M.P., Krivenko O.V. New strains of green microalgae from extreme environments in Crimea: identification using an integrative taxonomic approach // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - P. 310-337. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-310

1. Introduction

Microalgae biotechnology offers significant potential for implementing the concept of a circular economy (Santos et al., 2025), which provides a harmonious balance between environmental and economic priorities. It allows for the creation of zero-waste industrial systems, minimizing anthropogenic impact, and reducing greenhouse gas emissions across various economic sectors (Dvoretsky et al., 2022; Ende and Abomohra, 2024).

Taxonomically, microalgae are a polyphyletic group of eukaryotes that, through parallel evolution via single or multiple endosymbiosis, acquired the capacity for photosynthesis (Glibert, 2024). The phylogenetic divergence of microalgal lineages began early in the evolution of autotrophic eukaryotes, resulting in the exceptional diversity of metabolic networks among their modern representatives (Hildebrand et al., 2013).

Microalgae cells are able to accumulate significant amounts of proteins, carbohydrates, polar and neutral lipids with a rich set of fatty acids, and synthesize a wide range of biologically active compounds, including pigments (carotenoids, chlorophyll), vitamins, phytohormones, and antibiotics (Elsayed et al., 2024). This determines scientific interest in studying their biotechnological potential, stimulating the search for new valuable metabolites and the identification of promising producer strains for the industrial production of targeted compounds. Technological progress opens up opportunities for using microalgae biomass in several key areas: as a renewable fuel source (Jaremko et al., 2023), as a feedstock for the environmentally friendly production of bioplastics and biopolymers, and for restoring disturbed aquatic and terrestrial biotopes (Kim et al., 2022; Silva et al., 2025).

Screening the natural diversity of microalgae in extreme biotopes is a key approach for identifying strains with high biotechnological potential. Adaptation to extreme condi-

*Corresponding author. E-mail address: dantsiuk@ibss-ras.ru (N.V. Dantsyuk)

Received: June 20, 2026;
Accepted after revised: July 28, 2026;
Available online: August 28, 2026

© Author(s) 2026. This work is distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

tions is associated with a shift in intracellular metabolism towards the biosynthesis of secondary metabolite compounds that often exhibit high biological activity (Solovchenko and Minyuk, 2021; Debnath et al., 2024). The deposition of strains in living culture collections is a critical step in the development of biotechnological research. It ensures the confirmed taxonomic status of the object, its storage under strictly controlled conditions, and the maintenance of the purity and viability of the culture (Temraleeva and Sinetova, 2023). Such collection funds provide a reliable basis for employing reference strains in both fundamental research and industrial biotechnological development. Legislative recognition of their importance for biodiversity conservation (Federal Law of the Russian Federation of November 27, 2024 "On Bioresource Centers...") emphasizes the strategic importance of these collections for national biotechnology infrastructure.

The collection of live cultures of carotenogenic microalgae at the A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS (IBSS, registration no. 1201 in the World Data Centre for Microorganisms, WDCM) (Dantsyuk et al., 2021) was established in 2002 as part of the general collection of live cultures of microalgae at the Institute of Biology of the Southern Seas. Since 2017, it has been included in the Noah's Ark National Depository of Living Systems (a project of Lomonosov Moscow State University) under the identifier IBSS-ALGAE. The collection is replenished through targeted intercollection exchange and the isolation of new strains from the natural environment.

Due to the climatic conditions in the Russian Federation, mass cultivation of microalgae is only possible in a limited number of regions. Therefore, the search for new strains promising for industrial cultivation in the southern regions is a pressing issue for scaling up biotechnological processes. As part of the development of the IBSS collection, screening of Crimean algal flora began in 2024, aiming to identify microalgal strains adapted to local conditions. To date, 37 strains of Chlorophyta have been isolated from extreme habitats in the western and southeastern parts of the peninsula and belong to various ecological groups – aquatic, aerophilic, soil species, and lichen phycobionts.

The aim of this study was to describe five new Crimean microalgal strains deposited in the IBSS collection and identified through research of their life cycle, morphological fine structure, and molecular genetic analysis. Based on literary sources, the prospects for the practical use of new collection strains in biotechnological processes are discussed.

2. Materials and methods

2.1. Sampling areas

Sampling was conducted in four locations in the steppe region of Western Crimea and in the foothills of the southeastern and southwestern parts of the Peninsula during the spring and summer (Fig. 1., Table 1).

Sampling point 1 – the innermost part of Lake Donuzlav near the village of Krasnoyarskoye (north side of the bridge, 5-10 m from a freshwater well). A 3-4 m deep section is separated by a dam, creating freshwater conditions (Ryabushko et al., 2021). Salinity in the main body of water is 17.5-18.2‰.

Sampling point 2 – the eastern part of the Lake Kyzyl-Yar (a former hypersaline water body off the western coast of Crimea). The lake has been subjected to eutrophication and desalinization due to waters from the Mezhgornoye Reservoir (Shadrin et al., 2018). Sampling took place in the furthest part from the sea, with brackish water (2‰).

Sampling point 3 – an open plastic container with fresh water within the urban area of Sevastopol.

Sampling point 4 – rock baths on the slope of Mount Legener (Karadag volcanic massif). Rounded depressions in the rock (radius ~1 m, depth 0.5 m) are arranged in a cascade every 2-3 meters. Sampling was carried out in August, when there was no hydrological connection between the basins (the waters were stagnant). Samples were collected separately from different sites.

2.2. Material collection

Water samples from rock baths and natural water bodies were collected at the surface layer (0-0.1 m) using sterile Falcon polypropylene tubes. Salinity was measured with an ATAGO PAL-06S portable refractometer (Japan). Scrapings of wet deposit from a container with fresh water were taken with cotton swabs and sealed in polyethylene bags. Each sample was labeled with its number, collection date, precise GPS coordinates, and the collector's name. The samples were stored in laboratory conditions at temperatures and lighting levels as close as possible to in situ conditions until analysis.

Fig.1. Sampling map: 1 – Lake Donuzlav, corner part; 2 – Lake Kyzyl-Yar, eastern part; 3 – Sevastopol, Nakhimov Ave., 2; 4 – Karadag Nature Reserve, Mount Legener.

Table 1. Field sample collection areas.

№	Sampling area and points		Coordinates	Altitude	Salinity	Biotop	Date
1	Western Crimea, steppe region	Chernomorsky district, Krasnoyarskoye village, the corner part of Donuzlav Lake	45.500180, 33.264876	0 m	2‰	Water body	27.08.2024
2		Saki district, Lake Kyzyl-Yar (easternmost part, remote from the sea)	45.066459, 33.648638	1 m	2‰	Water body	27.08.2024
3	Southwestern Crimea, foothills	Sevastopol, Nakhimov Avenue, 2	44.616969, 33.522144	16 m	0‰	Plastic container with water	05.2024
4	Southeastern Crimea, foothills	Karadag Nature Reserve, Kara-Dag volcanic massif, Mt. Legener.	44.941943, 35.202785	300 m	0‰	Water body	20.08.2024

2.3. Isolation and cultivation of algal strains

Water samples were concentrated by centrifugation at low speed (70-130 g, 2-3 min). The supernatant was removed, and an artificial nutrient medium diluted 2-3 times with distilled water was added to the cell pellet. Bold's standard mineral medium (BBM) for green microalgae was used in this study (Bischoff and Bold, 1963). Biomaterial scrapings on cotton swabs were placed in glass vials containing diluted BBM, sealed with cotton-gauze stoppers, and incubated at room temperature for several days. To obtain algologically pure cultures, a method of multiple serial dilutions and inoculation of individual cells with a micropipette was used (Temraleeva et al., 2014). The final stage included inoculation on 1.5% BBM-agar in Petri dishes using the depletion streak method (Temraleeva et al., 2014).

Germination and formation of the first colonies were observed on an average after 2 weeks. To obtain an actively vegetating batch culture, individual microalgae colonies were inoculated with a microbiological loop into glass test tubes with a small volume (0.3 ml) of liquid BBM, sealed with cotton-gauze stoppers and incubated at room temperature and illumination of 35 μmol photons·m^{-2}·s^{-1}. Cell viability was monitored under a light microscope. For antibacterial treatment, a cocktail of broad-spectrum antibiotics was used (Kan and Pan, 2010): ampicillin (500 μg·ml^{-1}) and cefotaxime (100 μg·ml^{-1}). Fungicidal treatment was performed with a solution of fundazole (40 μg·ml^{-1}) (Mokrosnop and Zolotareva, 2012). For long-term storage, algologically pure microalgae cultures on 1.5% BBM-agar were placed in duplicate under controlled conditions. Samples were placed in a modified Snaige refrigerator display case equipped with Feron DL 20W T4 6400K LED lamps (Russia) and two additional thermostats (type F/2000, manufacturer FTWOF PRODIGY). The temperature was maintained at 14-16°C, with a light intensity of 20-26 μmol photons·m^{-2}·s^{-1} and a photoperiod of 15 h light: 9 h dark.

Five green microalgae strains were isolated and assigned numbers: IBSS-98, IBSS-164, IBSS-167, IBSS-171, and IBSS-163.

2.4. Light microscopy (LM)

Morphometric parameters of cell isolates were determined using a Nikon Eclipse Ts2R inverted light microscope. Linear dimensions were measured on micrographs obtained using a Lumenera Infinity 3 digital camera and processed using ImageJ Software (National Institute of Health, USA). A sample of 100 cells was taken for cell population size analysis. Live cultures were used for taxonomic identification. The algal life cycle was observed for 1–4 weeks.

2.5. Scanning electron microscopy (SEM)

To obtain cell surface images, samples were fixed with a glutaraldehyde solution at a final concentration of 1% in phosphate buffer (Chubchikova et al., 2022). Samples were dehydrated in a series of increasing concentrations of ethanol or ethanol and acetone (Rylkova et al., 2023). Critical point drying of the samples was performed in a Leica EM CPD300 system (Germany) for 2.5 hours in soft mode. Sputtering with an Au/Pd alloy (0.5-1.0 min) was performed in a Leica EM ACE200 system (Germany). SEM images of the cells were obtained using a Hitachi SU3500 scanning electron microscope (Japan) at the Microscopy Laboratory of the IBSS.

2.6. Molecular genetic analysis

Total DNA was extracted from concentrated microalgae cultures using the DNA-Extran-3 kit (Synthol, Russia) according to the manufacturer's protocol. The nuclear ribosomal gene cluster, including the ITS1, 5.8S rDNA, and ITS2 regions, was amplified by polymerase chain reaction (PCR) using the EncycloPlus PCR kit (Eurogen, Russia) with primers ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') and ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (White et al., 1990). The amplification protocol included: initial denaturation at 94°C for 3 min; 34 cycles (denaturation – 30 s at 94°C, primer annealing – 30 s at 60°C, elongation – 60 s at 72°C); and final elongation – 10 min at 72°C. The quality of the amplicons was assessed by electrophoresis in a 1.5% agarose gel stained with ethidium bromide at a concentration of 0.2 μg·ml^{-1}. PCR products were purified using the ColGen kit (Synthol, Russia) and sequenced using the GenSeq kit (Synthol, Russia) on a Nanophore 05 genetic analyzer (Institute for Advanced Studies, SevSU, Russia). Sequence editing and assembly were performed by manually comparing the forward and reverse chromatograms using 4Peaks (http://nucleobytes.com/index.php/4peaks).

Primary analysis of nucleotide sequences was performed using the BLASTn algorithm (Zhang et al., 2000; Morgulis et al., 2008). The obtained sequences for each strain were used as queries for an NCBI search (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi). The best matches were selected for further reconstruction based on sequence coverage, E-value, and percent identity, with a primary focus on sequences from authentic strains.

Multiple sequence alignment was performed using MAFFT v.7.48 (Katoh and Toh, 2010) with the L-INS-I algorithm, followed by removal of ambiguously aligned regions at the 5' and 3' ends. The length of the resulting matrix was 890 bp for IBSS-98, IBSS-164, IBSS-167, and IBSS-171 and 4989 bp for IBSS-163. Phylogenetic reconstructions were performed using the maximum likelihood (ML) method in the program IQ-TREE 3.0.0 (Trifinopoulos et al., 2016). The GTR + I + G4 and TIM2 + F + I + R2 nucleotide substitution models was automatically selected using ModelFinder using the Bayesian information criterion (BIC). The level of statistical support for the phylogenetic tree topology was assessed using three ratios: SH-like approximate likelihood ratio test (SH-aLRT, 10000 replications), "ultrafast" bootstrap ("ultrafast bootstrap", 10000 pseudoreplications), and aBayes method (number of failed iterations 1000). A Bayesian phylogenetic analysis was performed using BEAST v.10.5.0 (Suchard et al., 2018) for the concatenation matrix under the GTR + I + G4 substitution model and the Yule process of speciation. We calculated the Kimura two-parameter (K2P) distances using the MEGA 11 software (Kimura, 1980; Tamura et al., 2021). Visualization and editing of phylogenetic trees were performed using the philo.io online service (https://phylo.io/index.html).

Preliminary taxonomic identification based on morphological features was performed using identification keys (Komárek and Fott, 1983; Tsarenko, 1990; Andreeva, 1998). Algal taxonomy is specified according to AlgaeBase (Guiry and Guiry, 2026).

3. Results

3.1. Strain identification using molecular phylogeny

For five new strains isolated in pure culture and deposited in the IBSS collection, nucleotide sequences

of the rDNA marker region, including ITS1–5.8S–ITS2 (partially), were obtained. The total sequence length was 597 bp for strains IBSS-171 and IBSS-167, 620 bp for IBSS-98, 693 bp for IBSS-164, and 706 bp for IBSS-163. Initial analysis revealed that the sequences cluster within two chlorophyte families: Scenedesmaceae (IBSS-98, IBSS-164, IBSS-167, and IBSS-171) and Chlorellaceae (IBSS-163). A separate phylogenetic reconstruction was performed for each family. Multiple sequence alignments supporting these reconstructions are provided in Supplementary files S1 and S2, for Scenedesmaceae and Chlorellaceae, respectively (available via https://doi.org/10.6084/m9.figshare.32731128).

On the phylogenetic tree of the Scenedesmaceae family (Fig. 2), the obtained sequences are distributed among three closely related clades formed by representatives of the genera *Desmodesmus* (IBSS-171 and IBSS-167), *Tetradesmus/Acutodesmus* (IBSS-164), and *Coelastrella* (IBSS-98).

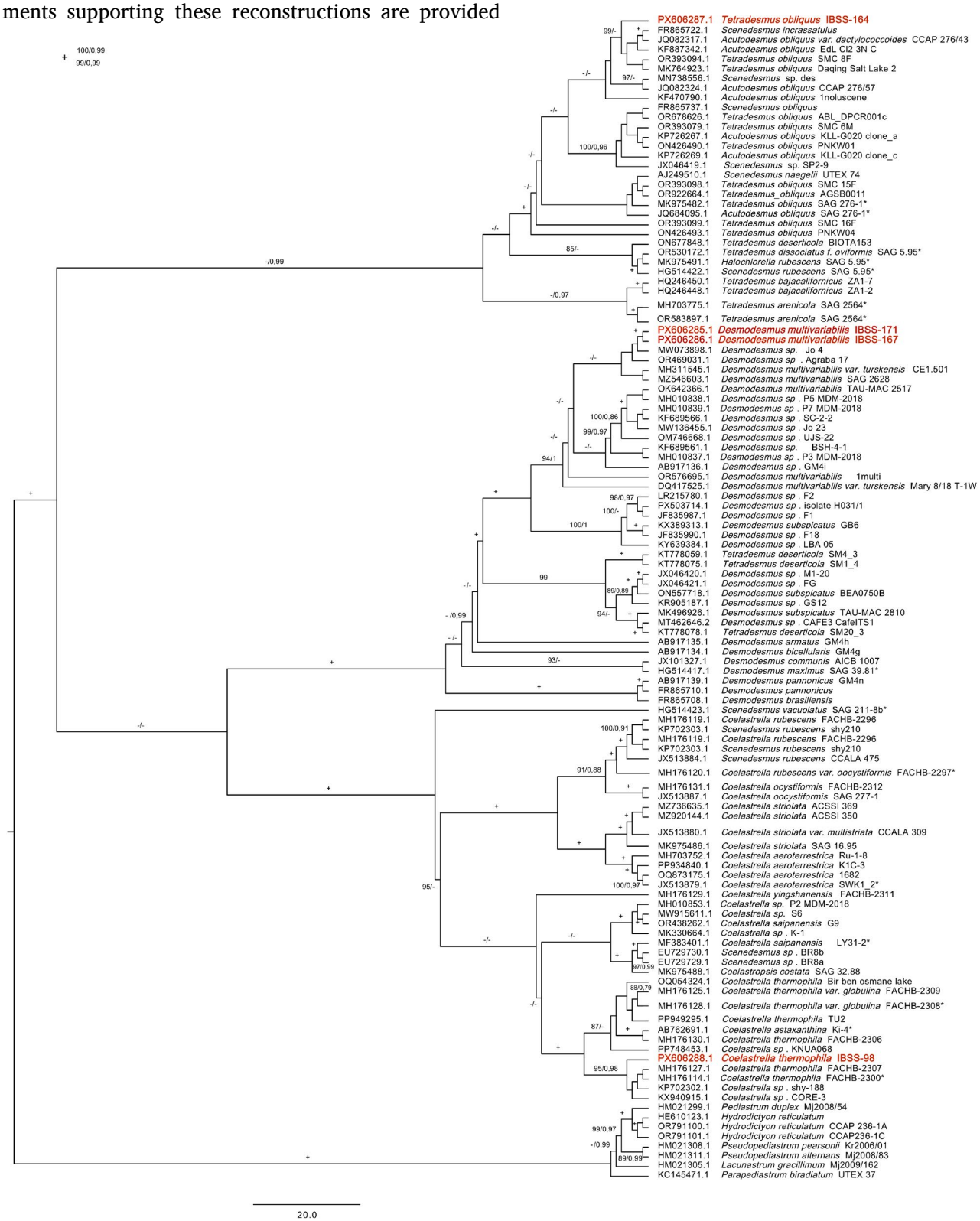


Fig.2. Position of the new strains IBSS-98, IBSS-164, IBSS-167, and IBSS-171 on the phylogenetic tree of the Scenedesmaceae, reconstructed by maximum likelihood (ML) from the ITS rDNA region. Support values are indicated as BS/PP (Bootstrap percentage / Bayesian posterior probability); only nodes with BS ≥ 85 and PP ≥ 0.85 are displayed on the tree. Support values BS ≥ 99 and PP ≥ 0.99 are marked with an asterisk (+). Authentic strains are marked with an asterisk (*).

The sequences of the analyzed genomic regions from strains IBSS-171 and IBSS-167 are completely identical. In the phylogenetic tree, these strains are included in a clade that encompasses several *D. multivariabilis* strains, including the authentic *D. multivariabilis* SAG 2058 and the variety *D. multivariabilis* var. turskensis, as well as more than ten unidentified *Desmodesmus* sp. isolates (Fig. 2). The Bayesian support of the node (posterior probability, PP) was 1.00, and the bootstrap support (BS) was 94%, indicating high reliability of this cluster. The closest phylogenetic neighbours of the Crimean strains are the unidentified isolates *Desmodesmus* Jo.4 and *Desmodesmus* sp. Agraba 17. The genetic distances to these isolates, calculated using the Kimura twoparameter (K2P) model, amount to 1.0% and 1.2%, respectively. For the nearest sister lineage, characterized by high statistical support and comprising six *Desmodesmus* sequences, including the identified *D. subspicatus* GB6 strain, the genetic distance values range between 2.2% and 4.5%.

Based on their position in the phylogenetic tree and the estimated genetic distances, the novel strains IBSS-171 and IBSS-167 were assigned to the *D. multivariabilis* lineage and deposited in NCBI under accession numbers PX606285 and PX606286, respectively. Nonetheless, further investigation of this lineage is needed, ideally employing a more extensive set of genetic markers.

Strain IBSS-164 belongs to a clade comprising over 20 strains, predominantly identified as *Tetradesmus obliquus* (including synonyms *Acutodesmus/Scenedesmus*), which also includes the sequence of the authentic strain *T. obliquus* SAG 2761. The cluster is strongly supported by high posterior probability (PP = 0.99) and bootstrap (BS = 99%) values. Evolutionary distances within this lineage range from 0 to 1.4%. The distance between strain IBSS-164 and its closest neighbours is approximately 0.5%, which corresponds to the average value for the *T. obliquus* clade. Evolutionary distances to the nearest lineages of other species within the genus (*T. arenicola* and *T. bajacalifornicus*), represented on the phylogenetic tree and characterised by high node support, range from 2.6 to 4.2%. Based on these data, the sequence of strain IBSS-164 was assigned to the *Tetradesmus obliquus* lineage and deposited in the NCBI database under accession number PX606287.

The sequence of strain IBSS-98 (the third of the isolated representatives of the family Scenedesmaceae) belongs to a clade of *Coelastrella thermophila* strains that shows maximum statistical support: PP = 1.00 and BS = 100% (Fig. 2). Genetic distances to the closest neighbours, including the sequence of the authentic *C. thermophila* strain FACHB-2300, do not exceed 0.3%. Evolutionary distances within the entire *C. thermophila* clade, including distinct variants, range from 0.6 to 1.3%. At the same time, genetic distances to the sequences of the socalled “core” group of *Coelastrella* species (in particular, *C. rubescens*, *C. yingshanensis*, *C. saipanensis*, and *C. aeroterrestrica)* range from 3 to 9%. Thus, the available data allow for the reliable differentiation of distinct *Coelastrella* species based on the analysis of the examined ribosomal gene cluster region. The *C. thermophila* IBSS-98 sequence has been deposited in NCBI under accession number PX606288.

The sequence of strain IBSS-163 is completely identical to the corresponding genomic region of the authentic strain *Dictyosphaerium ehrenbergianum* CCAP 222/14. In the phylogenetic tree (Fig. 3), these sequences, together with the type strain of *D. ehrenbergianum* CCAP 222/45, form a sister lineage to the clade comprising two strains of *D. libertatis*. This

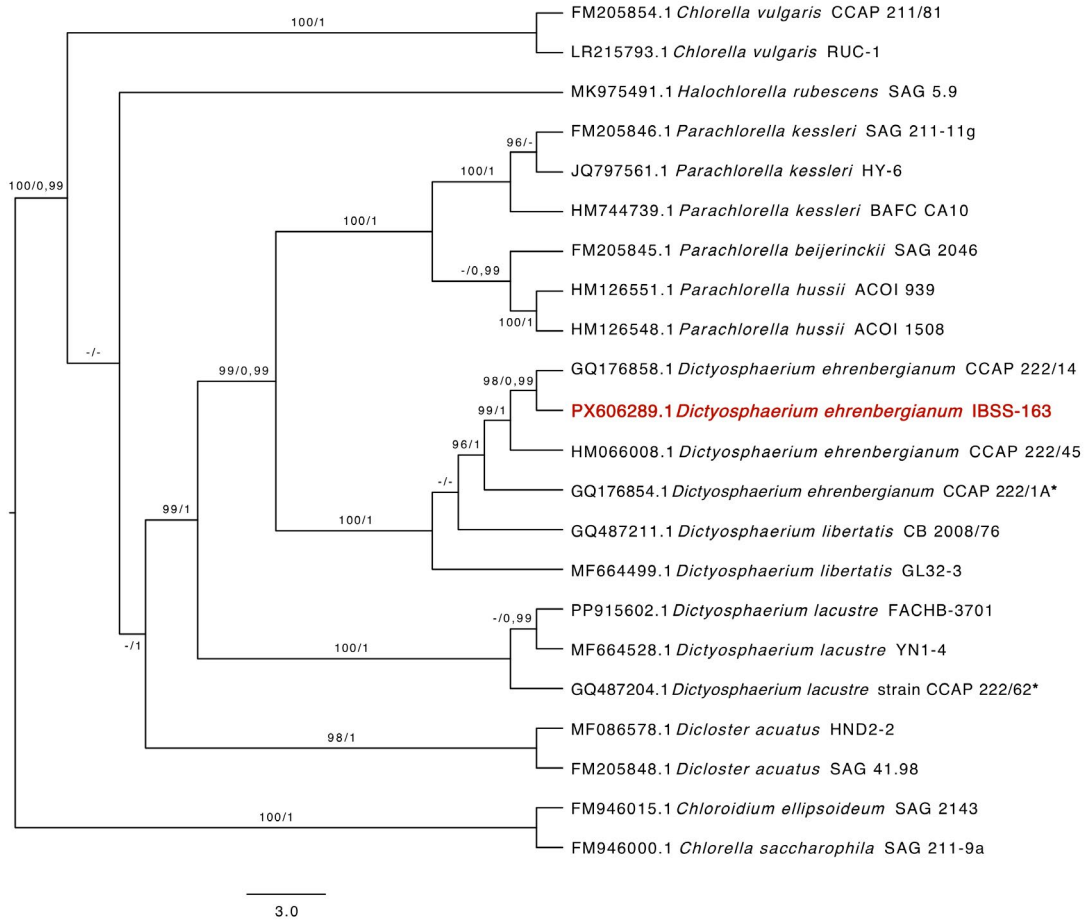


Fig.3. Position of the new strain IBSS-163 on the phylogenetic tree of representatives of the Chlorellaceae family, reconstructed from the ITS rDNA sequence using the maximum likelihood (ML) method. Support values are indicated as BS/PP (Bootstrap percentage / Bayesian posterior probability); only nodes with BS ≥ 0.85 and PP ≥ 85 are displayed on the tree. Authentic strains are marked with an asterisk (*).

topology is strongly supported by PP = 1.00 and BS ≥ 96%. Evolutionary distances in the studied genomic region between the species *D. ehrenbergianum* and *D. libertatis* range from 3 to 4%, whereas intraspecific distances for *D. ehrenbergianum* are approximately an order of magnitude lower (around 0.3%). Based on the presented phylogenetic analysis results, strain IBSS-163 has been assigned to the *Dictyosphaerium ehrenbergianum* lineage and deposited in NCBI under accession number PX606289.

3.2. Strain identification using an integrative approach

The morphological characterization of the new strains was carried out using LM, based on diagnostically significant morphometric and biological features observed at different stages of the microalgae life cycle. Scanning electron microscopy (SEM) revealed fine cell wall structures that were not visible under LM in some algal species. Together, these methods provided a more comprehensive morphological description of the studied strains. In addition, the type, shape, and color of colonies formed on solid agar medium were taken into account; colonies typically appeared approximately two weeks after inoculation.

Based on a combination of diagnostic features, including morphotype, cell shape and size, intracellular contents, and life cycle characteristics, the isolates were assigned to two classes of the algal lineage Chlorophyta: Chlorophyceae (4 strains) and Trebouxiophyceae (1 strain).

Coelastrella thermophila strain IBSS-98 Qinghua Wang, Huiyin Song, Xudong Liu, Guoxiang Liu & Zhengyu Hu 2019 (Chlorophyceae, Sphaeropleales, Scenedesmaceae).

Habitat

The strain was isolated from red biofilm on an open plastic container with fresh water that had been exposed to air for a long time (Point 3, Table 1). The isolate was identified as an aerophyte.

Morphology and Biology

On agar nutrient medium, the colonies of the isolated strain are solitary and dark green, turning bright orange as they aged. The cells in liquid culture are spindle-shaped, ovoid, or ellipsoid, with a parietal cup-shaped chloroplast clearly marked by a single pyrenoid (Fig. 4 A, B).

Cell sizes range from 6.5 to 12.5 μm in length and from 2.8 to 9.7 μm in width. The morphological features of the strain correspond to those typical of the genus *Coelastrella* Chodat 1922. A characteristic feature of this species, according to Wang et al. (2019), is the presence of asymmetrically elongated, ellipsoidal young cells, sometimes pointed at only one end.

Asexual reproduction occurs through the formation of autospores (2–4). Before division, the cells acquire a rounded shape. Sexual reproduction was not observed. SEM images reveal a characteristic cell wall sculpture in the form of meridional ribs (mostly 10–14) converging toward the cell poles (Fig. 4 C, D).

Based on an integrative analysis of morphological and molecular genetic characteristics, the new strain IBSS-98 has been identified as *Coelastrella thermophila*.

Strain IBSS-164 *Tetradesmus obliquus* (Turpin) M.J.Wynne 2016 (Chlorophyceae, Sphaeropleales, Scenedesmaceae)

Habitat

The strain was isolated from the eutrophic brackish waters of Lake Kyzyl-Yar, located in the steppe zone near Crimea's western coast. The sample was collected in August from the part of the lake furthest from the sea (Point 2, Table 1).

Morphology and Biology

On agar nutrient medium, colonies of the isolated strain are small, dark green, and acquire a yellow-green tint upon long-term storage (over two months). In liquid culture, the cells are solitary, oval or spindle-shaped, and form coenobium-like clusters of four cells without a mucous wrapper, arranged in a single plane (Fig. 5 A, B). The chloroplast is parietal, filling the interior of the cell, and one pyrenoid is located near the cell center.

Cell dimensions vary between 3.5–6.5 μm in length and between 1.7–4.7 μm in width. As the culture ages, the cells primarily occur as coenobium-like clusters. In the SEM image, the cell wall surface is smooth with polar thickenings and sparse meridional ribs (Fig. 5 C, D).

Reproduction is asexual, with autospores in groups of 2–4, without zoospore formation. Sexual reproduction was not observed.

Based on a combination of morphological characteristics, in particular, cell size and shape, as well as the pattern of their organization into a coenobium (Cho and Lee, 2024), strain IBSS-164 fully corresponds to the description

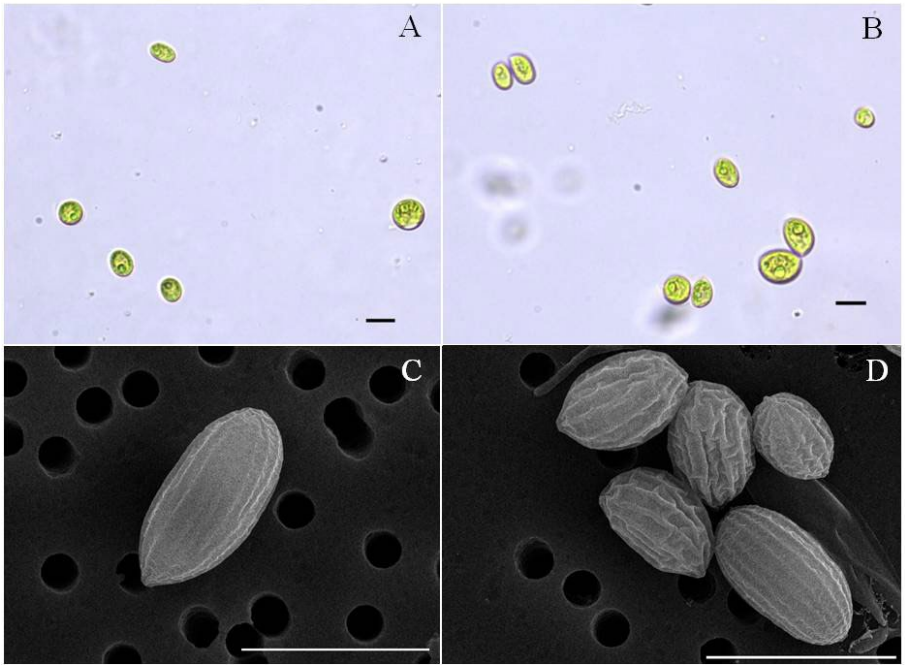


Fig.4. Images of young vegetative cells of the IBSS-98 *Coelastrella thermophila* strain: A, B – LM; C, D – SEM, scale bar 10 μm.

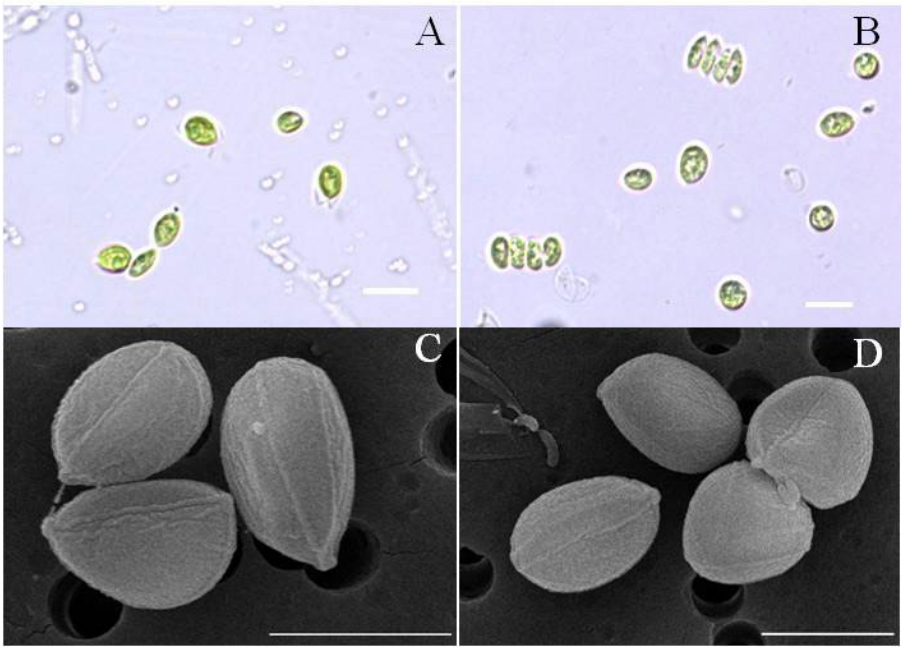


Fig.5. Images of young cells of the *Tetradesmus obliquus* strain IBSS-164: A, B – LM, scale bar 10 μm; C, D – SEM, scale bar 5 μm.

of *Tetradesmus obliquus* (Oliveira et al., 2021; Cho and Lee, 2024). This morphological assignment is supported by molecular genetic data.

Strains IBSS-167, IBSS-171 *Desmodesmus multivariabilis* E. Hegewald, Antal Schmidt, A. Braband & P. M. Tsarenko 2005 (Chlorophyceae, Sphaeropleales, Scenedesmaceae).

Habitat

Two strains of the same species were isolated from stagnant waters of a cascade system of rock baths on the slope of Mount Legener in the Karadag massif (Point 4, Table 1), collected in August. The samples were independent due to the lack of hydrological connection between the collection sites at the time of sampling.

Morphology and Biology

On agar nutrient medium, colonies of both strains are bulky and dark green. In liquid culture, single oval cells are found as well as 2–4-celled coenobiums arranged in a plane, suggesting that the algae exhibit pleomorphism at various stages of growth and development (Fig. 6).

The cells are nonmotile, and epistructures such as lateral “spines” and “horns” are not visible under a light microscope. Cell dimensions vary between 3–8 μm in length and 2–7 μm in width. The chloroplast occupies most of the cell’s volume, with a single distinct round pyrenoid. SEM images clearly show small warts and a few horn-like structures of equal length, located perpendicular to the cell wall (Fig. 6). Along the cell are uneven and knobbly meridional ribs, which may be entire or partially reduced.

Reproduction is asexual, with the formation of autospores; sexual reproduction has not been observed.

Both strains match the description provided in the literature (Gorelova et al., 2015; Demura et al., 2021; Xu et al., 2024). Based on morphological characteristics and phylogenetic analysis, strains IBSS-167 and IBSS-171 were identified as *Desmodesmus multivariabilis*.

Strain IBSS-163 *Dictyosphaerium ehrenbergianum* Nägeli 1849 (Trebouxiophyceae, Chlorellales, Chlorellaceae).

Habitat

The strain was isolated from brackish waters (2‰) at the upper part of Lake Donuzlav with depths of 3–4 m, separated from the main water area (Point 1, Table 1).

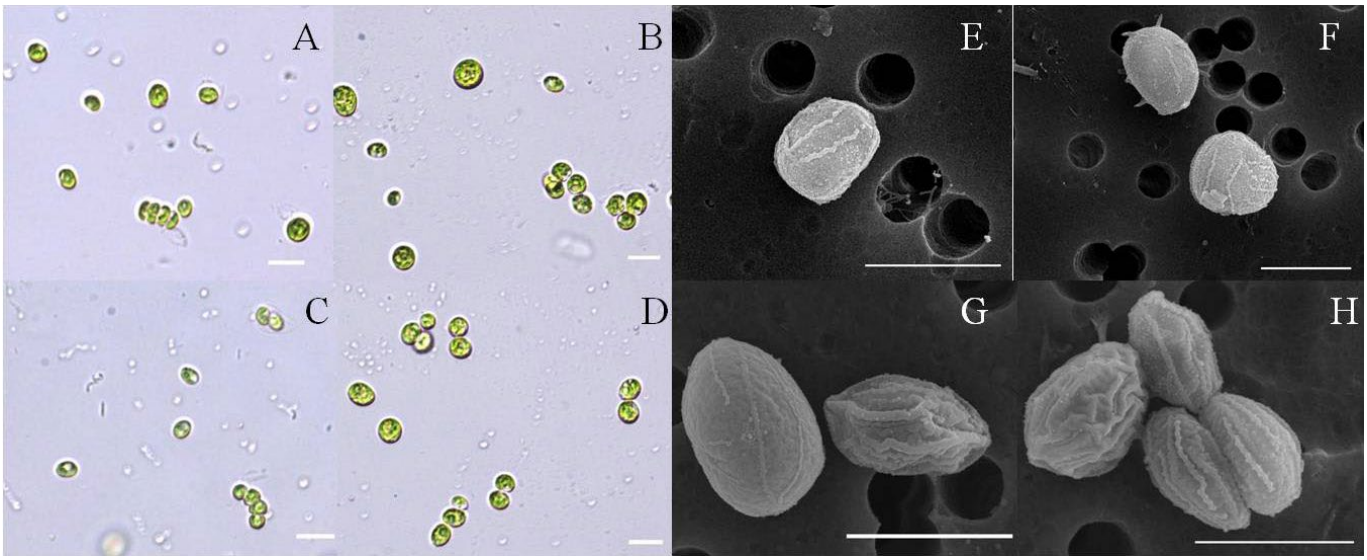


Fig.6. Images of *Desmodesmus multivariabilis* cells: A, B – LM of strain IBSS-167, C, D – LM of strain IBSS-171, scale bar = 10 μm; E, F – SEM of strain IBSS-167, G, H – SEM of strain IBSS-171, scale bar = 5 μm.

Morphology and Biology

On agar nutrient medium, the isolated colonies are solitary and bright green. In liquid culture, the cells form free-floating colonies consisting of four or more oval (ovoid) cells arranged in a cross-shaped pattern, laterally attached to gelatinous mucus cords in the transverse position. (Fig. 7 A, B). The cords extend radially from the colony center and divide dichotomously or tetratomously. Young cells range in size from 4.5 to 6.5 μm in length and from 2.5 to 5 μm in width. Older colonies consist of 8–16 rounded cells at the ends of mucus cords, forming "inflorescences," and may sometimes be surrounded by mucous membranes.

Reproduction occurs through colony fragmentation into segments of four cells arranged in a cross-like pattern on mucous cords (Fig. 7 B). The chloroplast is parietal with a single pyrenoid. In the SEM images, the cell walls and mucous cords are covered with warts (Fig. 7 D, E). As the culture aged, cells gradually increased in size, ranging from 4.5 to 7.5 μm in length and from 3.5 to 5 μm in width. Over time, the colonies compacted, obscuring the visibility of the mucilaginous strands (Fig. 7 C). Mature colonies disintegrated into individual cells due to the degradation of the mucilaginous connections (Fig. 7 F).

Based on morphological characteristics (Bock, 2010) and molecular genetic analysis (Fig. 3), the new strain IBSS-163 was identified as *Dictyosphaerium ehrenbergianum*.

4. Discussion

The role of national and regional microalgae culture collections in the development of biotechnologies and the conservation of biodiversity has been repeatedly emphasized in the literature (Kurpan et al., 2025; Lourenço, 2020). In this context, the expansion of the carotenogenic microalgae collection at the IBSS is of particular importance: since 2021, the number of maintained strains has increased from 44 to 131, while the proportion of local isolates (from Crimea and the Black Sea coastal regions of the Caucasus) has risen from 25% to 40%. Targeted screening of the Crimean algal flora has enabled the isolation of approximately 40 new strains in pure culture, which require detailed taxonomic and biotechnological characterization.

Taxonomic identification of five isolates was performed using an integrative approach that combined molecular genetic methods with morphological data (light and scanning electron microscopy). The species assignment of the isolates is supported by molecular phylogenetic analyses and is consistent with the morphological, ecological, and ontogenetic characteristics of the respective taxa described in the literature (Komárek and Fott, 1983; Tsarenko, 1990; Andreeva, 1998).

Selecting appropriate molecular markers for species differentiation in green algae remains a methodological challenge, largely due to the inherent limitations of morphological identification, specifically, high intraspecific variability and the similarity of closely related taxa (Krivina et al., 2025). In the present study, molecular identification of the new strains was based on phylogenetic analysis of the ITS region – a marker widely used to address taxonomic issues in green microalgae, alongside traditional DNA barcodes (SSU, rbsL, tufA) (Hoshina, 2014; Proeschold and Darienko, 2020; Krivina et al., 2024; Temraleeva and Bukin, 2022).

The resulting phylogenetic reconstructions show unambiguous placement of all new strains within four distinct clades characterized by high node support; these clades correspond to the species *Desmodesmus multivariabilis*, *Tetradesmus obliquus*, and *Coelastrella thermophila* (Chlorophyceae) and *Dictyosphaerium ehrenbergianum* (Trebouxiophyceae). Genetic distances calculated using the K2P model for the ITS region effectively differentiate intra and interspecific variability levels: intraspecific values typically remain below 2.2%, while distances between closely related species range from 3–4% and may reach 8–9% for more distantly related species. The observed genetic distance values are consistent with the data obtained for the ITS2 region (Hoshina, 2014). Thus, analysis of the ITS region allows reliable differentiation of species within the studied monophyletic lineages of Chlorophyceae and Trebouxiophyceae. At the same time, resolving the intraspecific structure and identifying potentially new species require the use of additional markers. According to current recommendations, this can be achieved through detailed analysis of the ITS2 region structure, as well as multigene reconstructions based on concatenated sequences of ribosomal and plastid genes or on the complete plastid genome (Krivina et al., 2025; Cho and Lee, 2024).

All identified strains are new to the FRC IBSS collection and have been isolated in pure culture from the Crimean algal flora for the first time. Considering the published data on the capacity of representatives of these taxa to accumulate valuable bioactive compounds, they represent promising candidates as biotechnological producer strains (see Table 2).

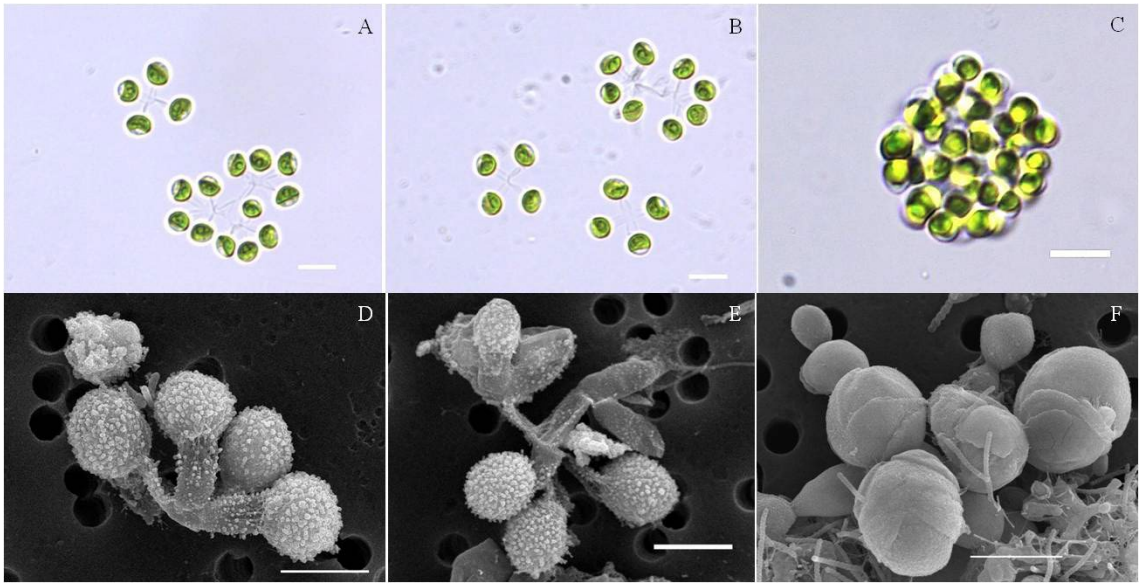


Fig.7. Images of *Dictyosphaerium ehrenbergianum* IBSS-163 cells: A, B – LM, young colonies; C – LM, mature colony (3-week culture), scale bar = 10 μm; D, E – SEM, young colonies; F – SEM, mature cells without the cell wall, scale bar = 5 μm.

Table 2. Systematization of literature data on microalgae species new to the IBSS collection: biotopes, biologically active substances, application areas, and representation in collections.

Microalgae	Biotope	Bioactive compounds	Application	Collections featuring the species
Coelastrella thermophila	Aquatic, soil, moist surfaces, extreme [6,5,2]	Carotenoids, Lipids, PUFAs [6] MUFAs, SFAs [5]	Bioenergetics, Cosmeceuticals and Pharmaceuticals [6,5]	SyKoA, FACHB, CCCryo, SAG
Tetradesmus obliquus	Aquatic (including rocky pools) [9,13]	Carotenoids, lutein [13] Lipids, MUFAs, SFAs [9]	Bioenergetics, Pharmaceuticals and Nutraceuticals [9,12,8]	UTEX, SAG, CCAP, VKM
Desmodesmus multivariabilis	Aquatic (freshwater, brackish); soil; symbiont of benthic invertebrates [7]	PUFAs [1]	Pharmaceuticals and Nutraceuticals [1] Bioremediation [11]	BCAC, CCAP, SAG, UTEX, VCA, TAU-MAC, FBCC
Dictyosphaerium ehrenbergianum	Aquatic (freshwater, brackish) [3,4]	Lipids, MUFAs, SFAs [10,4]	Bioenergetics [10,4]	CALU, CCAP, UTEX, FACHB

Note: PUFAs (polyunsaturated fatty acids); MUFAs (monounsaturated fatty acids); SFAs (saturated fatty acids).

[1]Akgül and Kösel, 2023; [2]Baldanta et al., 2025; [3]Bock, 2010; [4]Borah et al., 2018; [5]Boutarfa et al., 2022; [6]Goecke et al., 2020; [7]Gorelova et al., 2015; [8]Huang, 2025; [9]Ismagulova et al., 2018; [10]Jiang et al., 2018; [11]Onyancha et al., 2022; [12]Scoculi de Lira et al., 2025; [13]Ünüvar and Ünlü, 2022.

SYKOA Strain collection of microalgae and cyanobacteria from northern and arctic regions in the Institute of Biology of Komi Scientific Centre (http://ib.komisc.ru:8008/sykoa/collection/)

VKM All-russian collection of microorganisms (http://www.vkm.ru/rus/Catalogue.htm)

FACHB Freshwater Algae Culture Collection Chinese Academy of Sciences (http://english.ihb.cas.cn/research/platforms/npmp/202012/t20201202_255451.html)

CCCryo -Culture Collection of Cryophilic Algae (https://www.izi-bb.fraun)

SAG Sammlung von Algenkulturen at University of Göttingen (https://www.unigoettingen.de/de/184982.html)

UTEX Culture Collection of Algae (https://utex.org/)

CCAP Culture Collection of Algae and Protozoa (https://www.ccap.ac.uk/)

BCAC Bashkortostan collection of algae and cyanobacteria

CALU Collection of cyanobacteria, algae, and algal parasites (Collection of Algae of Leningrad University)

VCA Collection of Cyanobacteria and Algae of the Laboratory of Botany of the Federal Research Center for Biodiversity FEB RAS

TAU-MAC MicroAlgae and Cyanobacteria culture collection (http://cyanobacteria.myspecies.info)

FBCC Bioresources Culture Collection (https://fbp.nnibr.re.kr/fbcc/?lang=en).

The isolated species are all cosmopolitan and demonstrate high ecological plasticity, allowing them to thrive in a wide range of habitats (Table 2). Most species within the genera *Coelastrella*, *Tetradesmus*, and *Desmodesmus* are aerophytes that inhabit soil, rock and concrete surfaces, brick walls and tree bark (Table 2). In contrast, species of the *Dictyosphaerium* genus are common freshwater inhabitants and can dominate the phytoplankton community, forming blooms (Bock, 2010; Scoculi de Lira et al., 2025). Our sampling sites align well with the known natural biotopes of the identified microalgal strains.

In response to deteriorating external conditions (dehydration, salt stress, and exposure to high solar radiation), the aforementioned microalgae genera accumulate secondary metabolites, particularly fatty acids (FAs) (Ancona-Canché et al., 2017; Zhu et al., 2020). Microalgal lipids and triacylglycerols (TAGs) represent promising feedstocks for third-generation biofuel production (Jaremko et al., 2023). Species of the genus *Tetradesmus* efficiently produce lipids that can be used for biodiesel synthesis (Ismagulova et al., 2018; do Carmo Cesário et al., 2022). Notably, the total lipid content of their biomass varies considerably, ranging from 10% to 56% (Oliveira et al., 2021). For the IPPAS S-2023 strain, Ismagulova et al. (2018) determined the potential lipid content to be 20–40% of the total FAs under nitrogen-starvation conditions. Microalgae of the genus *Coelastrella* are also a promising source of renewable energy, since their biomass contains 18% lipids, which are suitable in quality for biodiesel production (Nayana et al., 2025). The fatty acid composition of lipids isolated from *Coelastrella* sp. KKU-P1 biomass is mainly represented by monounsaturated (MUFA) and unsaturated (USFA) fatty acids, which account for 49.7% and 43.7% of the lipid fraction, respectively (Thepsuthammarat et al., 2023). Mixotrophic cultivation of *Coelastrella* spp. yielded biomass with mainly MUFAs and USFAs (67.8–91.2%) (Boutarfa et al., 2022). Representatives of the genus *Desmodesmus* showed significant lipid accumulation under nitrogen starvation – from 36% to 58% of the dry biomass, while the percentage of TAGs in the total lipid pool reached 64–78% (Pan et al., 2011). *Dictyosphaerium ehrenbergianum* strain IL2 is characterized by high levels of saturated fatty acids (SFAs) (approximately 40%) and MUFAs (42% to 60%), primarily C16 and C18 fractions (Jiang et al., 2018). Research by Borah (2018) confirms the potential for using *D. ehrenbergianum* lipids as an alternative feedstock for biodiesel.

Microalgae are also a source of valuable bioactive compounds with a wide range of applications in the pharmaceutical, cosmetic, and nutraceutical industries and as feed additives in mariculture and livestock farming (Oliveira et al., 2022). Their metabolites exhibit antitumor, antidiabetic, anti-inflammatory, and antioxidant activities, which opens up opportunities for the development of functional foods with increased biological value (Oliveira et al., 2022). Members of the *Desmodesmus* genus can be used in the food industry as nutraceuticals and pharmaceuticals due to their diverse biochemical composition (Akgül and Kösel, 2023). The *Desmodesmus multivariabilis* strain has an exceptionally high PUFA content – 72% of the total lipids (Akgül and Kösel, 2023). The *Desmodesmus* sp. KNUA231 showed record activity in omega-3 fatty acid synthesis up to 54% (Shin et al., 2025). In *T. obliquus*, under nitrogen deficiency, C18:1 accounted for 50.6% and 53.4% of total FAs in heterotrophic and mixotrophic cultures, respectively (Oliveira et al., 2021). *Coelastrella* sp. FGS-001 also demonstrated a strong ability to

produce PUFAs with their proportion of total FAs reaching about 44–45%, especially linolenic acid (C18:3n3) – 30–34% (Goecke et al., 2020). A high PUFA content (45.6–65.2%) was observed during photoautotrophic cultivation of *Coelastrella* spp. (Minyuk et al., 2017). In contrast, *Coelastrella thermophila* var. *globulina* was dominated by MUFAs, accounting for 51% of the total FAs (Boutarfa et al., 2022), with a significant proportion of PUFAs (22%) and SFAs (27%). The FA composition of *C. multistriata* MZ-Ch23 was dominated by α-linolenic acid (29.4-38.1% of the total FA), and this strain is considered a potential producer of omega-3 fatty acids (Maltsev et al., 2021).

T. obliquus has a strong antioxidant potential due to its rich content of phenolic compounds, flavonoids, and pigments, in particular, carotenoids. It is used in the aquaculture, food, and pharmaceutical industries (do Carmo Cesário et al., 2022). Microalgae of the genus *Coelastrella* exhibit a pronounced ability to accumulate secondary carotenoids of the astaxanthin group – highly valuable pigments, widely demanded in aquaculture and pharmacology as antioxidants and immunomodulators with cardio- and neuroprotective properties (Maltsev et al., 2021; Minyuk et al., 2017; Ismagulova et al., 2018; Chekanov, 2023). The ability to secondary carotenogenesis has been revealed in a number of strains of *Coelastrella terrestris*, *Coelastrella aeroterrestrica*, and *C. thermophila* var. *globulina* (Chekanov, 2023; Goecke et al., 2020). Under two-stage cultivation, *Coelastrella rubescens* produces biotechnologically significant amounts of astaxanthin (Chubchikova et al., 2010).

In addition to their biotechnological value, microalgae from these four genera are promising for use in bioremediation. Their effective biosorption and detoxification mechanisms enable them to accumulate substantial amounts of heavy metals, pesticides, and pharmaceutical residues, making them suitable both for the remediation and for the monitoring of polluted ecosystems (Luo et al., 2016; Alwaleed et al., 2025; Onyancha et al., 2022). The effectiveness of this approach has been demonstrated in the phytoremediation of wastewater, including agricultural and industrial effluents (Baldanta et al., 2025; Ogbonna et al., 2021).

5. Conclusion

As part of a project to establish a bioresource collection of carotenogenic microalgae from the Crimean region, five new strains of green microalgae were isolated from diverse extreme biotopes in the western and southeastern parts of Crimea. Their species affiliation was determined using an integrative taxonomic approach. These strains are new to the IBSS collection and represent the first records from the Crimean algal flora. They belong to the genera *Coelastrella*, *Tetradesmus*, *Desmodesmus*, and *Dictyosphaerium*, constituting a valuable biological resource. A comprehensive assessment of their biotechnological potential will require a series of studies, including elucidation of the evolutionary relationships among the strains and physiological investigations into the mechanisms regulating intracellular metabolism under environmental stress. An important aspect is the development of costeffective cultivation methods, including specialized protocols for the targeted accumulation of biomass and specific metabolites. The emerging living culture collection serves as both an experimental platform for comprehensive research and a tool for preserving species diversity. It lays the foundation for a new economic sector in Crimea – the industrial cultivation of carotenogenic microalgae. This sector holds significant potential for the production of bioactive feed supplements, food additives, cosmetics, and lipids for industrial applications, offering broad prospects for the practical implementation of research findings.

Acknowledgements

The study was carried out with the financial support of the Russian Science Foundation, Grant No. 24-26-20121 "Creation of a Bioresource Collection of Carotenogenic Algae of the Crimean Region" (State Registration No. 124102900026-9) and as part of the State assignment "Comprehensive Study of the Mechanisms of Operation of Marine Biotechnological Complexes for the Purpose of Obtaining Biologically Active Substances from Aquatic Organisms" (No. 124022400152-1).

The authors express their sincere gratitude to the staff of the Karadag Scientific Station for organizing the expedition, and to V. V. Gubanov (Researcher, Department of Ichthyology, Federal Research Centre "A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS") for determining water salinity.

Conflict of interest

The authors have no conflicts of interest to declare.

References

Akgül F., Kösel S. 2023. Phenotypic plasticity, growth, biochemical composition, total phenolic content, and antioxidant activity of microalga *Desmodesmus multivariabilis* under different nitrogen and phosphorus concentrations. Chemical and Biochemical Engineering Quarterly 37(4): 273–288. DOI: 10.15255/CABEQ.2023.2199

Alwaleed E.A., Galal H.R.M., Aboueldahab M. et al. 2025. Maximizing lipid accumulation in *Tetradesmus obliquus* under heavy metal stress for sustainable biodiesel innovation. BMC biotechnology 25(1): 20. DOI: 10.1186/s12896-025-00951-z

Ancona-Canché K., López-Adrián S., Espinosa-Aguilar M. et al. 2017. Molecular phylogeny and morphologic data of strains of the genus *Coelastrella*. Botanical Sciences 95: 527–537. DOI: 10.17129/BOTSCI.1201

Andreeva V.M. 1998. Terrestrial and aerophilic green algae (Chlorophyta: Tetrasporales, Chlorococcales, Chlorosarcinales). Sankt-Peterburg: Nauka. (in Russian)

Baldanta S., Ferreira A., Marco Vinuesa A.V. et al. 2025. A solar panel-origin microalga, *Coelastrella thermophila* D14, with high potential for wastewater biotechnology. Applied Microbiology and Biotechnology 109: 246. DOI: 10.1007/s00253-025-13618-8

Bischoff H.W., Bold H.C. 1963. Some soil algae from enchanted rock and related algal species. In: Phycological Studies IV. 6318: 1–95. USA: University of Texas.

Bock C. 2010. Genetic diversity and polyphyletic origin of the *Dictyosphaerium morphotype*. Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades des Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.), Institut für Biologie/Zoologie der Freien Universität, Berlin. DOI: 10.17169/refubium-15273

Borah N., Venkatesh H.N., Sudharshana T.N. et al. 2018. Isolation and utilization of *Dictyosphaerium ehrenbergianum* Nageli for biodiesel production: lipid extraction and biodiesel property analysis. Biofuels 11(8): 885–892. DOI: 10.1080/17597269.2018.1432270

Boutarfa S., Senoussi M.M., Gonzalez-Silvera D. et al. 2022. The Green Microalga *Coelastrella thermophila var. globulina* (Scenedesmaceae, Chlorophyta) isolated from an Algerian hot spring as a potential source of fatty acids. Life 12(4): 560. DOI: 10.3390/life12040560

Chekanov K. 2023. Diversity and distribution of carotenogenic algae in Europe: a review. Marine Drugs 21: 108. DOI: 10.3390/md21020108

Cho H.S., Lee J.M. 2024. Taxonomic reinvestigation of the genus *Tetradesmus* (Scenedesmaceae; Sphaeropleales) based on morphological characteristics and chloroplast

genomes. Frontiers in Plant Science 15: 1303175. DOI: 10.3389/fpls.2024.1303175

Chubchikova I.N., Drobetskaya I.V., Dantsyuk N.V. et al. 2022. Optimization of the method of fixation of freshwater microalgae (Scenedesmaceae, Chlorophyta) for primary identification using scanning electron microscopy. Voprosy sovremennoi al'gologii [Questions of modern algology] 1(28): 102–109. DOI: 10.33624/2311-0147-2022-1(28)-102-109 (in Russian)

Chubchikova I.N., Minyuk G.S., Drobetskaya I.V. 2010. Secondary carotenogenesis in green microalgae *Scotiellopsis rubescens* Vinatz. under natural insolation and temperature. Ekologiya Morya 81: 77–81.

Dantsyuk N.V., Chelebieva E.S., Minyuk G.S. 2021. Working collection of living cultures of carotenogenic microalgae of the A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the South Seas. Marine Biological Journal 6(4): 3–18. DOI: 10.21072/mbj.2021.06.4.01 (in Russian)

Debnath T., Bandyopadhyay T.K., Vanitha K. et al. 2024. Astaxanthin from microalgae: A review on structure, biosynthesis, production strategies and application. Food Research International 176: 113841. DOI: 10.1016/j.foodres.2023.113841

Demura M., Noma S., Hayashi N. 2021. Species and fatty acid diversity of *Desmodesmus* (Chlorophyta) in a local Japanese area and identification of new docosahexaenoic acid-producing species. Biomass 1: 105–118. DOI: 10.3390/biomass1020008

do Carmo Cesário C., Soares J., Cossolin J.F.S. et al. 2022. Biochemical and morphological characterization of freshwater microalga *Tetradesmus obliquus* (Chlorophyta: Chlorophyceae). Protoplasma 259(4): 937–948. DOI: 10.1007/s00709-021-01712-3

Dvoretsky D.S., Temnov M.S., Markin I.V. et al. 2022. Issues of developing effective biotechnology for the synthesis of valuable components from microalgae biomass. Teoreticheskie osnovy khimicheskoi tekhnologii [Theoretical foundations of chemical technology] 56(4): 418–433. DOI: 10.31857/S0040357122040029 (in Russian)

Elsayed M., Eraky M., Faisal S. et al. 2024. Phycochemicals. In: Abomohra A., Ende S. (eds.), Value-added products from algae. Cham, Switzerland: Springer International Publishing AG Springer, pp. 71–95. DOI: 10.1007/978-3-031-42026-9_4

Ende S., Abomohra A. 2024. Opening the Algal Gateway. In: Abomohra A., Ende S. (eds.) Value-added Products from Algae. Cham, Switzerland: Springer International Publishing AG Springer, pp. 1–9. DOI: 10.1007/978-3-031-42026-9_1

Glibert P.M. 2024. Endosymbiosis and Evolution. In: Phytoplankton Whispering: An Introduction to the Physiology and Ecology of Microalgae. Cham, Switzerland: Springer International Publishing AG Springer, pp. 213–227. DOI: 10.1007/978-3-031-53897-1_10

Goecke F., Noda J., Paliocha M. et al. 2020. Revision of *Coelastrella* (Scenedesmaceae, Chlorophyta) and first register of this green coccoid microalga for continental Norway. World Journal of Microbiology and Biotechnology 36(10): 149. DOI: 10.1007/s11274-020-02897-0

Gorelova O.A., Baulina O.I., Solovchenko A.E. et al. 2015. Similarity and diversity of the *Desmodesmus* spp. microalgae isolated from associations with White Sea invertebrates. Protoplasma 252: 489–503. DOI: 10.1007/s00709-014-0694-0

Guiry M.D., Guiry G.M. 2026. AlgaeBase. World-Wide Electronic Publication, University of Galway. URL: https://www.algaebase.org/search/species/ (accessed: 02.02.2026).

Hildebrand M., Abbriano R.M., Polle J.E. et al. 2013. Metabolic and cellular organization in evolutionarily diverse microalgae as related to biofuels production. Current opinion in chemical biology 17(3): 506–514. DOI: 10.1016/j.cbpa.2013.02.027

Hoshina R. 2014. DNA analyses of a private collection of microbial green algae contribute to a better understanding of microbial diversity. BMC Research Notes 7: 592. DOI: 10.1186/1756-0500-7-592

Huang D., Yu Q., Long J. et al. 2025. Nitrogen source determines the growth and morphology of *Tetradesmus obliquus* by concentration-dependent pattern. Journal of Applied Phycology 37: 2259–2270. DOI: 10.1007/s10811-025-03533-w

Ismagulova T., Chekanov K., Gorelova O. et al. 2018. A new subarctic strain of *Tetradesmus obliquus* – Part I: Identification and fatty acid profiling. Journal of Applied Phycology 30: 2737–2750. DOI: 10.1007/s10811-017-1313-1

Jaremko M., Tomar S., Agarwal S. et al. 2023. Microalgae: A promising source for biofuel production. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology 53: 102877. DOI: 10.1016/J.BCAB.2023.102877

Jiang Y., Pu X., Zheng D. et al. 2018. Cultivation of lipid-producing microalgae in struvite-precipitated liquid digestate for biodiesel production. Biotechnology for Biofuels 11: 101. DOI: 10.1186/s13068-018-1102-3

Kan Y., Pan J. 2010. A one-shot solution to bacterial and fungal contamination in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* culture by using an antibiotic cocktail. Journal of Phycology 46(6): 1356–1358. DOI: 10.1111/j.1529-8817.2010.00904.x

Katoh K., Toh H. 2010. Parallelization of the MAFFT multiple sequence alignment program. Bioinformatics 26(15): 1899–1900. DOI: 10.1093/bioinformatics/btq224

Kim G.M., Chang W.S., Kim Y.K. 2022. Biocomposites using whole or valuable component-extracted microalgae blended with polymers: A review. Catalysts 12(1): 25. DOI: 10.3390/catal12010025

Kimura M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. Journal of Molecular Evolution 16(2):111–120.

Komárek J., Fott B. 1983. Chlorophyceae (Grünalgen) Ordnung: Chlorococcales. In: Das Phytoplankton des Süsswassers (Band XVI, 6. Teil. Die Binnengewässer). (Huber-Pestalozzi, G. Eds). Stuttgart: E. Schweizerbart.

Krivina E., Sinetova M., Starikov A. et al. 2025. Testing the effectiveness of DNA barcoding markers and species delimitation methods within the genus *Coelastrella* (Sphaeropleales, Chlorophyta), with a description of *Coelastrella polaris* sp. nov. isolated from Arctic soils. Curr Microbiol 82: 311. DOI: 10.1007/s00284-025-04293-z

Krivina E., Sinetova M., Zadneprovskaya E. et al. 2024. The genus *Coelastrella* (Chlorophyceae, Chlorophyta): molecular species delimitation, biotechnological potential, and description of a new species *Coelastrella affinis* sp. nov., based on an integrative taxonomic approach. Antonie van Leeuwenhoek 117(1): 113. DOI: 10.1007/s10482-024-02008-1

Kurpan D., Cardeiras R., Bagnoud-Velásquez M. et al. 2025. Isolation, characterization, and maintenance of native Swiss microalgae for biotechnological prospection. Scientific Reports 15: 25573. DOI: 10.1038/s41598-025-10989-w

Lourenço S. 2020. Microalgae culture collections, strain maintenance, and propagation (Chapter 3). In: Handbook of microalgae-based processes and products: Fundamentals and advances in energy, food, feed, fertilizer, and bioactive compounds. Academic Press, pp. 49–84. DOI: 10.1016/B978-0-12-818536-0.00003-8

Luo L., He H., Yang C. et al. 2016. Nutrient removal and lipid production by *Coelastrella* sp. in anaerobically and aerobically treated swine wastewater. Bioresource Technology 216: 135–141. DOI: 10.1016/j.biortech.2016.05.059

Maltsev Y., Krivova Z., Maltseva S. et al. 2021. Lipid accumulation by *Coelastrella multistriata* (Scenedesmaceae,

Sphaeropleales) during nitrogen and phosphorus starvation. Scientific Reports 11(1): 19818. DOI: 10.1038/s41598-021-99376-9

Minyuk G., Chelebieva E., Chubchikova I. et al. 2017. Stress-induced secondary carotenogenesis in *Coelastrella rubescens* (Scenedesmaceae, Chlorophyta), a producer of value-added keto-carotenoids. Algae 32(3): 245–259. DOI: 10.4490/algae.2017.32.8.6

Mokrosnop V.M., Zolotareva E.K. 2012. The effect of fungicides on the growth of the microalgae *Euglena gracilis* Klebs (Euglenophyta). Al'gologiya [Algology] 22(4): 337–344. (in Russian)

Morgulis A., Coulouris G., Raytselis Y. et al. 2008. Database indexing for production MegaBLAST searches. Bioinformatics 24(16): 1757–1764. DOI: 10.1093/bioinformatics/btn322

Nayana K., Sudhakar M.P., Arunkumar K. 2025. Biorefinery potential of *Coelastrella* biomass for fuel and bioproducts – a review. Biomass Conversion and Biorefinery 15: 29613–29626. DOI: 10.1007/s13399-022-02519-9

Ogbonna I.O., Ikwebe J., Okpozu O.O. et al. 2021. Potential of *Dictyosphaerium* sp. LC172264: Concomitant remediation of cassava wastewater and accumulation of lipids for biodiesel production. Advances in Bioscience and Biotechnology 12(8): 257–274. DOI: 10.4236/abb.2021.128016

Oliveira C.Y.B., Jacob A., Nader C. et al. 2022. An overview on microalgae as renewable resources for meeting sustainable development goals. Journal of Environmental Management 320: 115897. DOI: 10.1016/j.jenvman.2022.115897

Oliveira C.Y.B., Oliveira C.D.L., Prasad R. et al. 2021. A multidisciplinary review of *Tetradesmus obliquus*: A microalga suitable for large-scale biomass production and emerging environmental applications. Reviews in Aquaculture 13: 1594–1618. DOI: 10.1111/raq.12536

Onyancha F.M., Haneklaus N.H., Brink H.G. 2022. Cultivation of *Desmodesmus multivariabilis* for the treatment of cosmetic wastewater. Sustainability 14(23): 15665. DOI: 10.3390/su142315665

Pan Y.-Y., Wang S.-T., Chuang L.-T. et al. 2011. Isolation of thermo-tolerant and high lipid content green microalgae: Oil accumulation is predominantly controlled by photosystem efficiency during stress treatments in *Desmodesmus*. Bioresource Technology 102: 10510–10517. DOI: 10.1016/j.biortech.2011.08.091

Proeschold T., Darienko T. 2020. The green puzzle *Stichococcus* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta): New generic and species concept among this widely distributed genus. Phytotaxa 441(2): 113–142. DOI: 10.11646/phytotaxa.441.2.2

Ryabushko V.I., Shchurov S.V., Kovrigina N.P. et al. 2021. Hydrological hydrochemical and hydrobiological studies of Lake Donuzlav (Western Crimea, Black Sea) based on the results of the 2018 expeditions. Ekologicheskaya bezopasnost' pribrezhnoi i shel'fovoi zon morya [Environmental safety of the coastal and offshore zones of the sea] 2: 80–93. DOI: 10.22449/2413-5577-2021-2-80-93 (in Russian)

Rylkova O.A., Borovkov A.B., Khanaychenko A.N. et al. 2023. Features of sample preparation of samples of monadic microalgae forms for scanning electron microscopy. Bioraznoobrazie i ustoichivoe razvitie [Biodiversity and sustainable development] 8(4): 62–74. DOI: 10.21072/eco.2023.28.05 (in Russian)

Santos B., Freitas F., Sobral A.J.F.N. et al. 2025. Microalgae and circular economy: Unlocking waste to resource pathways for sustainable development. International Journal of Sustainable Engineering 18(1): 2501488. DOI: 10.1080/19397038.2025.2501488

Scoculi de Lira G., Severo I.A., Ferraz F.A. et al. 2025. Multiparametric evaluation of *Tetradesmus obliquus* biomass: An integrated approach including antioxidant, nutritional, and energy properties. Microorganisms 13: 1583. DOI: 10.3390/microorganisms13071583

Shadrin N.V., Simonov V.G., Anufriieva E.V. et al. 2018. Anthropogenic transformation of Kyzyl-Yar Lake in Crimea: Multiyear research findings. Arid Ecosystems 8: 299–306. DOI: 10.1134/S2079096118040091

Shin Y.-S., Do J.-M., Noh H.-S. et al. 2025. Exploring the potential of *Desmodesmus* sp. KNUA231 for bioenergy and biofertilizer applications and its adaptability to environmental stress. Applied Sciences 15: 5097. DOI: 10.3390/app15095097

Silva B.L., de Souza F.O., João J.J. et al. 2025. Algae-Filled Polypropylene: How Particle Size of *Nannochloropsis oculata* Biomass Affects Composite Properties. Polymer Engineering & Science 65(12): 6812–6822. DOI: 10.1002/pen.70166

Solovchenko A., Minyuk G. 2021. The physiology of astaxanthin production by carotenogenic microalgae. In: Ravishankar G.A., Ranga Rao A. (eds.), Global perspectives on astaxanthin: From industrial production to food, health, and pharmaceutical applications (Chapter 2). Academic Press, pp. 19–35. DOI: 10.1016/B978-0-12-823304-7.00026-X

Suchard M.A., Lemey P., Baele G. et al. 2018. Bayesian phylogenetic and phylodynamic data integration using BEAST 1.10. Virus Evolution 4(1): vey016. DOI: 10.1093/ve/vey016

Tamura K., Stecher G., Kumar S. 2021. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. 2021. Molecular Biology and Evolution 38: 3022–3027. DOI: 10.1093/molbev/msab120

Temraleeva A.D., Bukin Y.S. 2022. Morphology, molecular phylogeny, and species delimitation within microalgal genera *Eubrownia*, *Spongiococcum*, and *Chlorococcum* (Chlorophyceae, Chlorophyta). South African Journal of Botany 151: 396–409. DOI: 10.1016/j.sajb.2022.10.030

Temraleeva A.D., Mincheva E.V., Bukin Yu.S. et al. 2014. Modern methods of isolation, cultivation and identification of green algae (Chlorophyta). Kostroma: Kostroma Printing House. (in Russian)

Temraleeva A.D., Sinetova M.A. 2023. Collections of microalgae and cyanobacteria in Russia: current state, problems and development prospects. Mikrobilogiya [Microbiology]92(5): 429–440. DOI: 10.31857/S0026365623600232 (in Russian)

Thepsuthammarat K., Reungsang A., Plangklang P. 2023. *Coelastrella* sp. cultivation on unhydrolyzed molasses-based medium towards the optimization of conditions for growth and biomass production under mixotrophic cultivation. Molecules 28: 3603. DOI: 10.3390/molecules28083603

Trifinopoulos J., Nguyen L.-T., von Haeseler et al A.. 2016. W-IQ-TREE: A fast online phylogenetic tool for maximum likelihood analysis. Nucleic Acids Research 44(1): W232–W235. DOI: 10.1093/nar/gkw256

Tsarenko P.M. 1990. A short determinant of chlorococcal algae of the Ukrainian SSR. Kiev: Naukova dumka. (in Russian)

Ünüvar Ö.C., Ünlü E.S. 2022. De Novo Assembly and Annotation of Microalga *Tetradesmus obliquus* Transcriptome. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 22(11): TRJFAS21341. DOI: 10.4194/TRJFAS21341

Wang Q., Song H., Liu X. et al. 2019. Morphology and molecular phylogeny of coccoid green algae Coelastrella sensu lato (Scenedesmaceae, Sphaeropleales), including the description of three new species and two new varieties. Journal of Phycology 55: 1290–1305.

White T.J., Bruns T., Lee S. et al. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: M.A. Innis, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky, T. White (Eds.), PCR protocols: A guide to methods and applications. Academic Press Inc, pp. 315–322. DOI: 10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1

Xu Y., Chen X., Melkonian M. et al. 2024. Comparative chloroplast genome analysis of two *Desmodesmus* species reveals genome diversity within Scenedesmaceae (Sphaeropleales, Chlorophyceae) Protist: 175(6): 126073. DOI: 10.1016/j.protis.2024.126073

Zhang Z., Schwartz S., Wagner L. et al. 2000. A greedy algorithm for aligning DNA sequences. Journal of Computational Biology 7(1–2): 203–214. DOI: 10.1089/10665270050081478

Zhu X., Wang Z., Sun Y. et al. 2020. Surfactants at environmentally relevant concentrations interfere the inducible defense of *Scenedesmus obliquus* and the implications for ecological risk assessment. Environmental pollution (Barking, Essex: 1987) 261: 114131. DOI: 10.1016/j.envpol.2020.114131

Оригинальная статья
LIMNOLOGY FRESHWATER BIOLOGY

Новые штаммы зеленых микроводорослей из экстремальных биотопов Крыма: таксономическая идентификация с использованием интегративного подхода

Данцюк Н.В.[1]*, Мансурова И.М.[1], Дегтяр И.В.[2], Кулешова О.Н.[1], Дробецкая И.В.[1], Бочарова Е.А.[1], Лишаев В.Н.[1], Кирин М.П.[1], Кривенко О.В.[1]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр «Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН», проспект Нахимова 2, Севастополь, 299011, Россия*
[2] *Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Севастопольский государственный университет», улица Университетская 33, Севастополь, 299053, Россия*

АННОТАЦИЯ. Исследование выполнено в рамках проекта по созданию биоресурсной коллекции каротиногенных микроводорослей Крымского региона с целью выявления перспективных штаммов, адаптированных к климатическим условиям юга России. В ходе массового сбора образцов из экстремальных биотопов западной и юго-восточной частей полуострова были выделены и охарактеризованы пять новых штаммов зелёных водорослей. Таксономическая идентификация проведена с применением интегративного подхода, который включал анализ особенностей жизненного цикла, морфологическое описание с использованием световой и сканирующей электронной микроскопии, а также филогенетический анализ участка ядерного генома (ITS1–5.8S–ITS2). В результате штаммы были отнесены четырём родам в составе классов Chlorophyceae (*Coelastrella thermophila* IBSS-98, *Tetradesmus obliquus* IBSS-164, *Desmodesmus multivariabilis* IBSS-167 и IBSS-171) и Trebouxiophyceae (*Dictyosphaerium ehrenbergianum* IBSS-163). Все штаммы – новые для коллекции ИнБЮМ виды, впервые полученные в чистой культуре из крымской альгофлоры. Многообразие направлений использования этих видов в биотехнологических процессах – от очистки окружающей среды до производства ценных продуктов для фармацевтической, косметической и пищевой промышленности, а также биотоплива – определяет актуальность их дальнейшего изучения, открывая перспективы для развития региональной экономики.

Ключевые слова: микроводоросли, коллекция культур, филогенетический анализ, интегративный подход, *Coelastrella thermophila*, *Tetradesmus obliquus*, *Desmodesmus multivariabilis*, *Dictyosphaerium ehrenbergianum*, биотехнологии

Для цитирования: Данцюк Н.В., Мансурова И.М., Дегтяр И.В., Кулешова О.Н., Дробецкая И.В., Бочарова Е.А., Лишаев В.Н., Кирин М.П., Кривенко О.В. Новые штаммы зеленых микроводорослей из экстремальных биотопов Крыма: таксономическая идентификация с использованием интегративного подхода // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - С. 310-337. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-310

1. Введение

Биотехнологии культивирования микроводорослей обладают значительным потенциалом для реализации концепции экономики замкнутого цикла (Santos et al., 2025). Они позволяют гармонично сочетать экологические и экономические приоритеты, обеспечивая создание безотходных промышленных систем, минимизацию антропогенного воздействия и сокращение выбросов парниковых газов в различных отраслях хозяйственной деятельности (Дворецкий и др., 2022; Ende and Abomohra, 2024).

С таксономической точки зрения микроводоросли представляют собой полифилетическую группу одноклеточных эукариот, которые в процессе параллельной эволюции за счёт однократного или множественного эндосимбиоза приобрели способность к фотосинтезу (Glibert, 2024). Филогенетическое расхождение линий микрово-

*Автор для переписки. Адрес e-mail: dantsiuk@ibss-ras.ru (Н.В. Данцюк)

Поступила: 20 июня 2026;
Принята после доработки: 28 июля 2026;
Опубликована online: 28 августа 2026

© Автор(ы) 2026. Эта работа распространяется под международной лицензией Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.

дорослей началось на самых ранних этапах эволюции автотрофных эукариот, что обусловило исключительное разнообразие метаболических сетей их современных представителей (Hildebrand et al., 2013). Клетки микроводорослей способны накапливать значительные количества белка, углеводов, полярных и нейтральных липидов с богатым набором жирных кислот, а также синтезировать широкий спектр биологически активных соединений, включая пигменты (каротиноиды, хлорофилл), витамины, фитогормоны и антибиотики (Elsayed et al., 2024). Это определяет научный интерес к изучению их биотехнологического потенциала, стимулируя поиск новых ценных метаболитов и идентификацию перспективных штаммов-продуцентов для промышленного получения целевых соединений. Технологический прогресс открывает возможности для использования биомассы микроводорослей в нескольких ключевых направлениях: как возобновляемого источника топлива (Jaremko et al., 2023); в качестве сырья для экологически чистого производства биопластика и биополимеров; для восстановления нарушенных водных и наземных биотопов (Kim et al., 2022; Silva et al., 2025).

Скрининг природного разнообразия микроводорослей в экстремальных биотопах служит ключевым подходом для выявления штаммов с высоким биотехнологическим потенциалом. Адаптация к экстремальным условиям сопряжена со сдвигом внутриклеточного метаболизма в сторону биосинтеза вторичных метаболитов – соединений, часто обладающих высокой биологической активностью (Solovchenko and Minyuk, 2021; Debnath et al., 2024). Депонирование штаммов в коллекциях живых культур является критически важным этапом для развития биотехнологических исследований. Он обеспечивает подтверждённый таксономический статус объекта, хранение микроводорослей в строго контролируемых условиях, а также поддержание чистоты и жизнеспособности культуры (Темралеева и Синетова, 2023). Такие коллекционные фонды служат надёжной основой для использования эталонных штаммов как в фундаментальных исследованиях, так и в разработке промышленных технологических процессов. Законодательное закрепление их роли в сохранении биоразнообразия (ФЗ РФ от 27.11.2024 «О биоресурсных центрах…») подчёркивает стратегическое значение подобных коллекций для национальной биотехнологической инфраструктуры.

Коллекция живых культур каротиногенных микроводорослей ФИЦ ИнБЮМ (акроним IBSS, регистрационный № 1201 в World Data Centre for Microorganisms, WDCM) (Данцюк и др., 2021) была создана в 2002 году как часть общей коллекции живых культур микроводорослей Института биологии южных морей. С 2017 года она включена в национальный банк-депозитарий живых систем «Ноев ковчег» (проект МГУ им. М.В. Ломоносова) под идентификатором IBSS-ALGAE. Пополнение фонда осуществляется за счёт направленного межколлекционного обмена и выделения новых штаммов непосредственно из природной среды.

В силу климатических особенностей территории Российской Федерации массовое культивирование микроводорослей возможно лишь в ограниченном числе регионов. В связи с этим поиск новых штаммов, перспективных для промышленного выращивания в южных регионах страны, представляет собой актуальную задачу для масштабирования биотехнологических процессов. В рамках развития коллекции IBSS в 2024 году начат скрининг альгофлоры Крыма, направленный на поиск штаммов микроводорослей, адаптированных к местным условиям. На текущий момент получено 37 штаммов Chlorophyta, выделенных из экстремальных биотопов западной и юго-восточной частей полуострова и относящихся к различным экологическим группам микроводорослей – водные, аэрофильные, почвенные виды, фикобионты лишайников.

Цель настоящей работы – описание пяти новых крымских штаммов микроводорослей, депонированных в коллекцию IBSS, идентификация которых выполнена на основе изучения их жизненного цикла, особенностей тонкой морфологической структуры, а также результатов молекулярно-генетического анализа. По данным литературных источников обсуждаются перспективы практического использования новых коллекционных штаммов в биотехнологических процессах.

2. Материалы и методы

2.1. Районы сбора проб

Отбор проб проводили в четырех точках в степной части западного Крыма, предгорьях юго-восточной и юго-западной части полуострова в весенне-летний период (Рис. 1, Таблица 1).

Точка 1 – кутовая часть озера Донузлав у села Красноярское (северная сторона моста, 5–10 м от пресного колодца). Участок глубиной 3–4 м отделён дамбой, что формирует пресноводные условия (Рябушко и др., 2021). Солёность в основной акватории — 17,5–18,2‰.

Точка 2 – плавни в восточной части озера Кызыл-Яр (бывший гиперсолёный водоём у западного побережья Крыма). Озеро подвержено эвтрофикации и распреснению за счёт вод Межгорного водохранилища (Shadrin et al., 2018). Отбор проб

Рис.1. Карта отбора проб: 1 – оз. Донузлав, кутовая часть; 2 – оз. Кызыл-Яр, восточная часть; 3 – г. Севастополь, пр. Нахимова, 2; 4 – Карадагский природный заповедник, г. Легенер.

Таблица 1. Районы сбора полевых образцов.

№	Район сбора		Координаты	Высота над уровнем моря	Соленость	Биотоп	Дата
1	Западный Крым, степной район	р-н Черноморский, с. Красноярское, кутовая часть оз. Донузлав	45.500180, 33.264876	0 м	2‰	Водоем	27.08.2024
2		р-н Сакский, плавни оз. Кызыл-Яр (восточная часть озера, наиболее удаленная от моря)	45.066459, 33.648638	1 м	2‰	Водоем	27.08.2024
3	Юго-западный Крым, предгорье	г. Севастополь, пр. Нахимова, 2	44.616969, 33.522144	16 м	0‰	Пластиковая емкость с водой	05.2024
4	Юго-восточный Крым, предгорье	Карадагский природный заповедник, горно-вулканический массив Кара-Даг, г. Легенер	44.941943, 35.202785	300 м	0‰	Водоем	20.08.2024

выполнен в наиболее удалённой от моря части с солоноватыми водами (2‰).

Точка 3 – емкость с пресной водой в пределах городской застройки г. Севастополь.

Точка 4 – скальные ванны на склоне горы Легенер (горно-вулканический массив Карадаг). Естественные округлые углубления в породе (радиус ~1 м, глубина 0,5 м) расположены каскадом на расстоянии 2–3 м друг от друга. Отбор проб выполнен в августе в условиях отсутствия гидрологической связи между ваннами (застойное состояние вод). Пробы взяты независимо из разных объектов.

2.2. Сбор материала

Отбор проб воды из каменных ванн и естественных водоёмов проводили у поверхности (0–0,1 м) с использованием стерильных полипропиленовых пробирок типа Falcon. Солёность определяли портативным рефрактометром ATAGO PAL-06S (Япония). Каждую пробу маркировали с указанием: номера, даты сбора, GPS координат и фамилии сотрудника, выполнившего отбор. До момента анализа пробы хранили в лабораторных условиях при температуре и освещённости, максимально приближённых к *in situ* параметрам.

2.3. Изоляция и культивирование штаммов водорослей

Водные пробы концентрировали центрифугированием при низкой скорости (70–130g, 2–3 мин). Супернатант удаляли, а к осадку клеток добавляли искусственную питательную среду, разбавленную дистиллированной водой в 2–3 раза. В работе использовали унифицированную стандартную минеральную среду Болда (BBM) для зелёных микроводорослей (Bischoff and Bold, 1963). Соскобы биоматериала на ватных палочках помещали в стеклянные флаконы с разбавленной средой BBM, закрывали ватно-марлевыми пробками и инкубировали при комнатной температуре несколько суток. Для получения альгологически чистых культур применяли метод многократного последовательного разведения и инокуляцию отдельных клеток методом микропипетки (Темралеева и др., 2014). Финальный этап включал посев на агаризованную (1,5%) среду BBM в чашках Петри методом истощающего штриха (Темралеева и др., 2014).

Прорастание и образование первых колоний наблюдали в среднем через 2 недели. Для получения активно вегетирующей накопительной культуры отдельные колонии микроводорослей переносили микробиологической петлёй в стеклянные пробирки с небольшим объёмом (0,3 мл) жидкой среды BBM, закрывали ватно-марлевыми пробками и инкубировали при комнатной температуре и освещении 35 мкмоль фотонов $м^{-2}·с^{-1}$. Контроль жизнеспособности клеток проводили под световым микроскопом. Для антибактериальной обработки использовали коктейль антибиотиков широкого спектра действия (Kan and Pan, 2010): ампициллин (500 $мкг·мл^{-1}$) и цефотаксим (100 $мкг·мл^{-1}$). Фунгицидную обработку выполняли раствором фундазола (40 $мкг·мл^{-1}$) (Мокросноп и Золотарёва, 2012). Для длительного хранения в коллекции альгологически чистые культуры микроводорослей на агаризованной (1,5%) среде BBM помещали в двух повторностях в контролируемые условия. Образцы размещали в модифицированной холодильной витрине Snaige, оснащённой светодиодными лампами Feron DL 20W T4 6400K (Россия) и двумя дополнительными терморегуляторами (тип F/2000, производитель FTWOF PRODIGY), где поддерживали температуру 14–16°C, интенсивность освещения 20–26 мкмоль фотонов $м^{-2}·с^{-1}$ и фотопериодом 15 ч свет: 9 ч темнота.

Выделено 5 штаммов зеленых микроводорослей с присвоением номеров: IBSS-98, IBSS-164, IBSS-167, IBSS-171, IBSS-163.

2.4. Световая микроскопия (СМ)

Морфометрические параметры клеток выделенных штаммов определяли с использованием инвертированного светового микроскопа Nikon Eclipse Ts2R. Линейные размеры измеряли по микрофотографиям, полученным цифровой камерой Infinity 3 Lumenera, с обработкой в программе ImageJ Software (National Institute of Health, USA). Выборка для анализа размерной структуры клеточных популяций включала 100 клеток. Для таксономической идентификации использовали живую культуру. Наблюдения за жизненным циклом водорослей проводили в течение 1–4 недель.

2.5. Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ)

Для получения изображений поверхности клеток образцы фиксировали раствором глутарового альдегида в фосфатном буфере (конечная концентрация - 1%) (Чубчикова и др., 2022). Пробы дегидратировали в серии возрастающих концентраций этанола или смеси этанола и ацетона (Рылькова и др., 2023). Сушку образцов в критической точке проводили в установке Leica EM CPD300 (Германия) в течение 2,5 ч в мягком режиме. Напыление сплавом Au/Pd (0,5–1,0 мин) выполняли в системе Leica EM ACE200 (Германия). СЭМ-изображения клеток получали с помощью сканирующего электронного микроскопа Hitachi SU3500 (Япония) на базе Лаборатории микроскопии ФИЦ ИнБЮМ.

2.6. Молекулярно-генетический анализ

Тотальную ДНК выделяли из концентрированных культур микроводорослей с использованием набора «ДНК-Экстран-3» («Синтол», Россия) в соответствии с инструкцией производителя.

Амплификацию участка кластера ядерных рибосомальных генов, включающего области ITS1, 5.8S рДНК и ITS2, проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием набора реагентов «Encyclo Plus PCR kit» («Евроген», Россия) и праймеров ITS1 (5′-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3′) и ITS4 (5′-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3′) (White et al., 1990). Протокол амплификации включал: начальную денатурацию при 94°C в течение 3 мин; 34 цикла (денатурация – 30 с при 94°C, отжиг праймеров – 30 с при 60°C, элонгация – 60 с при 72°C); финальную элонгацию – 10 мин при 72°C. Качество ампликонов оценивали методом электрофореза в 1,5% агарозном геле с окрашиванием бромистым этидием в концентрации 0,2 мкг/мл. ПЦР-продукты очищали с использованием набора «ColGen» («Синтол», Россия) и секвенировали с помощью набора «GenSeq» («Синтол», Россия) на генетическом анализаторе «Нанофор 05» (Институт перспективных исследований, СевГУ, Россия). Редактирование и сборку последовательностей выполняли в программе 4Peaks, сопоставляя прямые и обратные хроматограммы (http://nucleobytes.com/index.php/4peaks).

Первичный анализ нуклеотидных последовательностей проводили с использованием алгоритма BLASTn (Zhang et al., 2000; Morgulis et al., 2008). Полученные для каждого штамма последовательности использовались в качестве запросов для поиска в базе данных NCBI (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi). На основании показателей покрытия последовательности, E-значения и процента идентичности выбирали наилучшие совпадения, которые были использованы для дальнейшего филогенетического анализа, с особым акцентом на последовательности эталонных (аутентичных) штаммов.

Множественное выравнивание последовательностей выполняли в программе MAFFT v.7.48 (Katoh and Toh, 2010) с алгоритмом L-INS-I, с последующим удалением неоднозначно выровненных участков на 5′- и 3′-концах. Длина полученной матрицы составила 890 п.н. для IBSS-98, IBSS-164, IBSS-167, IBSS-171 и 4989 п.н. для IBSS-163. Филогенетические реконструкции проводили методом максимального правдоподобия (ML) в программе IQ-TREE 3.0.0 (Trifinopoulos et al., 2016). Модели нуклеотидных замен GTR+I+G4 и TIM2+F+I+R2 были автоматически выбраны с помощью ModelFinder по байесовскому информационному критерию (BIC). Уровень статистической поддержки топологии филогенетического дерева оценивали с помощью трех показателей: приближенного теста отношения правдоподобия типа Shimodaira-Hasegawa (SH-aLRT, 10000 репликаций), «сверхбыстрого» бутстрепа (ultrafast bootstrap 10000 псевдорепликаций) и метода aBayes (максимальное число неудачных итераций – 1000). Байесовский филогенетический анализ был выполнен с использованием программы BEAST v.10.5.0 (Suchard et al., 2018) для конкатенированной матрицы со следующими параметрами запуска: модель замен – GTR+I+G4 и модель видообразования – процесс Юла. Расстояния по двухпараметрической модели Кимура (K2P) были рассчитаны с помощью программного обеспечения MEGA 11 (Kimura, 1980; Tamura et al., 2021). Визуализацию и редактирование филогенетических деревьев выполняли с использованием онлайн-сервиса philo.io (https://phylo.io/index.html).

Для предварительной таксономической идентификации по морфологическим признакам использовали определители (Komárek and Fott, 1983; Царенко, 1990; Андреева, 1998). Систематика водорослей указана в соответствии с базой данных AlgaeBase (Guiry and Guiry, 2026).

3. Результаты

3.1. Идентификация штаммов методами молекулярной филогении

Для пяти новых штаммов, выделенных в чистую культуру и депонированных в коллекции IBSS, получены нуклеотидные последовательности маркерного участка рДНК в ITS-области, включающей ITS1–5.8S–ITS2 (частично). Общая длина после-

довательностей составила: 597 п. н. для штаммов IBSS-171 и IBSS-167, 620 п. н. для IBSS-98, 693 п. н. для IBSS-164, 706 п. н. для IBSS-163. Первичный анализ показал, что последовательности кластеризуются в пределах двух семейств хлорофитовых водорослей: Scenedesmaceae (IBSS-98, IBSS-164, IBSS-167 и IBSS-171), Chlorellaceae (IBSS-163). Для каждого семейства была выполнена отдельная филогенетическая реконструкция. Использованные для их построения множественные выравнивания приведены в Приложениях S1 и S2 соответственно для Scenedesmaceae и Chlorellaceae (доступны по https://doi.org/10.6084/m9.figshare.32731128).

На филогенетическом дереве семейства Scenedesmaceae (Рис. 2) полученные последовательности распределены по трем близкородственным

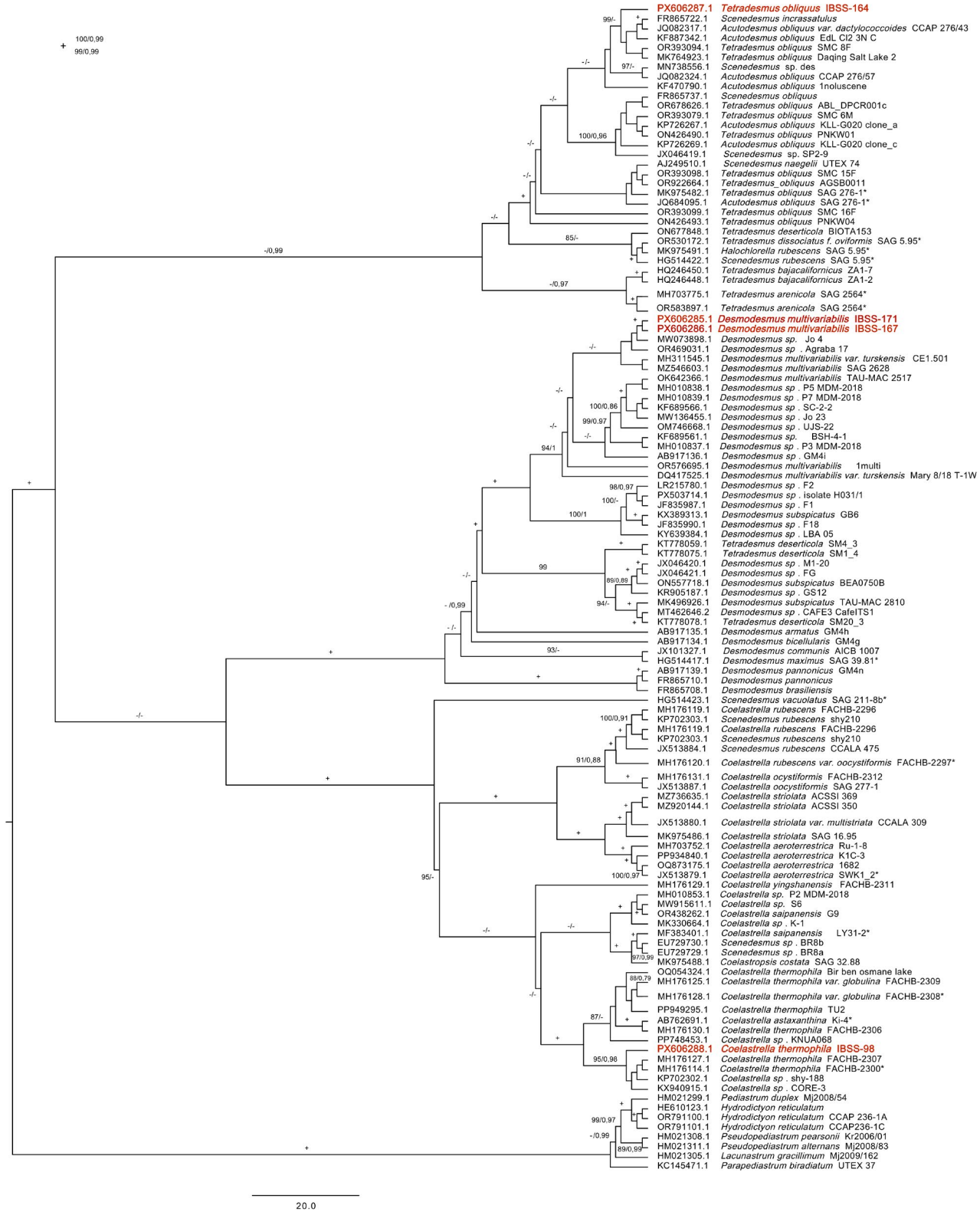


Рис.2. Положение новых штаммов IBSS-98, IBSS-164, IBSS-167 и IBSS-171 на филогенетическом дереве семейства Scenedesmaceae, реконструированном методом максимального правдоподобия (ML) по последовательности ITS-области рДНК. Значения поддержки узлов указаны в формате BS/PP (процент бутстрепподдержки / байесовская постериорная вероятность); на дереве отображены только узлы с BS ≥ 85 и PP ≥ 0.85.

Поддержки узлов BS ≥ 99 и PP ≥ 0.99 отмечены символом (+). Аутентичные штаммы отмечены символом (*).

кладам, сформированным представителями родов *Desmodesmus* (IBSS-171 и IBSS-167), *Tetradesmus/ Acutodesmus* (IBSS-164) и *Coelastrella* (IBSS-98).

Последовательности анализируемых участков геномов штаммов IBSS-171 и IBSS-167 полностью идентичны. На филогенетическом дереве данные штаммы входят в состав клады, которая объединяет несколько штаммов *D. multivariabilis*, включая аутентичный штамм *D. multivariabilis* SAG 2058 и его разновидность *D. multivariabilis* var. *turskensis*, а также более десяти неидентифицированных изолятов рода *Desmodesmus* sp. (Рис. 2). Байесовская поддержка узла (постериорная вероятность, PP) максимальная – 1,00, бутсреп-поддержка (BS) составляет 94%, что свидетельствует о высокой надёжности поддержки этого кластера. Ближайшими филогенетическими соседями крымских штаммов выступают неидентифицированные изоляты *Desmodesmus* Jo.4 и *Desmodesmus* sp. Agraba 17. Генетические дистанции до этих изолятов, рассчитанные по двухпараметрической модели Кимуры (K2P), составляют 1,0% и 1,2% соответственно. Для ближайшей сестринской линии, характеризующейся высокой статистической поддержкой и включающей шесть последовательностей рода *Desmodesmus* (в том числе идентифицированный штамм *D. subspicatus* GB6), значения генетических дистанций находятся в интервале 2,2–4,5%.

С учетом положения на филогенетическом дереве и оценки генетических дистанций, новые штаммы IBSS-171 и IBSS-167 были отнесены к линии *D. multivariabilis* и депонированы в базе NCBI под номерами доступа PX606285 и PX606286 соответственно. Но очевидно, что структура данной линии требует дальнейшего изучения с использованием более широкого набора генетических маркёров.

Штамм IBSS-164 относится к кладе, включающей свыше 20 штаммов, в основном идентифицируемых как *Tetradesmus obliquus* (синонимы: *Acutodesmus/ Scenedesmus*), в том числе последовательность аутентичного штамма *T. obliquus* SAG 2761. Высокие значения PP = 0,99 и BS = 99% свидетельствуют о надёжности выделенного кластера. Эволюционные дистанции внутри данной линии варьируют в диапазоне от 0 до 1,4%. Расстояние между штаммом IBSS-164 и его ближайшими соседями составляет около 0,5%, что соответствует среднему значению для клады *T. obliquus*. Эволюционные дистанции до ближайших линий других видов рода (*T. arenicola* и *T. bajacalifornicus),* представленных на филогенетическом дереве и характеризующихся высокой поддержкой узлов, варьируют в диапазоне 2,6–4,2%. На основании полученных данных последовательность штамма IBSS-164 была отнесена к линии *Tetradesmus obliquus* и депонирована в базе NCBI под номером PX606287.

Последовательность штамма IBSS-98, третьего из выделенных представителей семейства Scenedesmaceae, входит в кладу, объединяющую штаммы *Coelastrella thermophila*, и которая имеет максимальный уровень статистической поддержки: PP = 1,00 и BS = 100% (Рис. 2). Генетические дистанции до ближайших соседей, включая последовательность аутентичного штамма *C. thermophila* FACHB-2300, не превышают 0,3%. Эволюционные дистанции в пределах всей клады *C. thermophila*, включая отдельные варианты этого вида, варьируют в диапазоне от 0,6 до 1,3%. При этом генетические расстояния до последовательностей так называемой «коровой» группы видов рода *Coelastrella* (в частности, *C. rubescens*, *C. yingshanensis*, *C. saipanensis*, *C. aeroterrestrica*) составляют от 3 до 9%. Таким образом, имеющиеся данные позволяют с высокой степенью достоверности дифференцировать отдельные виды рода *Coelastrella* на основании анализа исследуемого участка рибосомального кластера генов. Последовательность *C. thermophila* IBSS-98 депонирована в базе NCBI под номером PX606288.

Последовательность штамма IBSS-163 полностью идентична соответствующему участку генома аутентичного штамма *Dictyosphaerium ehrenbergianum* CCAP 222/14. На филогенетическом дереве (Рис. 3) эти последовательности совместно с образцом типового вида *D. ehrenbergianum* CCAP 222/45 формируют сестринскую линию по отношению к кладе, включающей два штамма *D. libertatis*. Надёжность данной топологии подтверждается высокими значениями поддержки: PP = 1,00 и BS ≥ 96%. Эволюционные дистанции на изученном участке генома между видами *D. ehrenbergianum* и *D. libertatis* варьируют в пределах 3–4%, тогда как внутривидовые расстояния для *D. ehrenbergianum* на порядок ниже (около 0,3%). На основании полученных данных штамм IBSS-163 отнесён к линии *D. ehrenbergianum* и зарегистрирован в базе NCBI под номером PX606289.

3.2. Идентификация штаммов на основе интегративного подхода

Морфологическое описание новых штаммов проводили с использованием СМ по доступным диагностически значимым морфометрическим и биологическим признакам на разных стадиях жизненного цикла микроводорослей. Применение СЭМ позволило выявить микроскопические особенности структуры клеточной оболочки, не поддающиеся визуализации у ряда видов при помощи СМ. В комплексе оба метода обеспечили расширенное морфологическое описание исследуемых штаммов. Дополнительно учитывали тип, форму и цвет колоний на твёрдой агаризованной среде, формирующихся в среднем через две недели после посева.

На основании совокупности диагностических признаков — морфотипа, формы и размеров клеток, внутриклеточного содержимого и особенностей жизненного цикла — выделенные штаммы отнесены к двум классам водорослевой линии Chlorophyta: Chlorophyceae (4 штамма) и Trebouxiophyceae (1 штамм).

Штамм IBSS-98 *Coelastrella thermophila* Qinghua Wang, Huiyin Song, Xudong Liu, Guoxiang Liu & Zhengyu Hu 2019 (Chlorophyceae, Sphaeropleales, Scenedesmaceae).

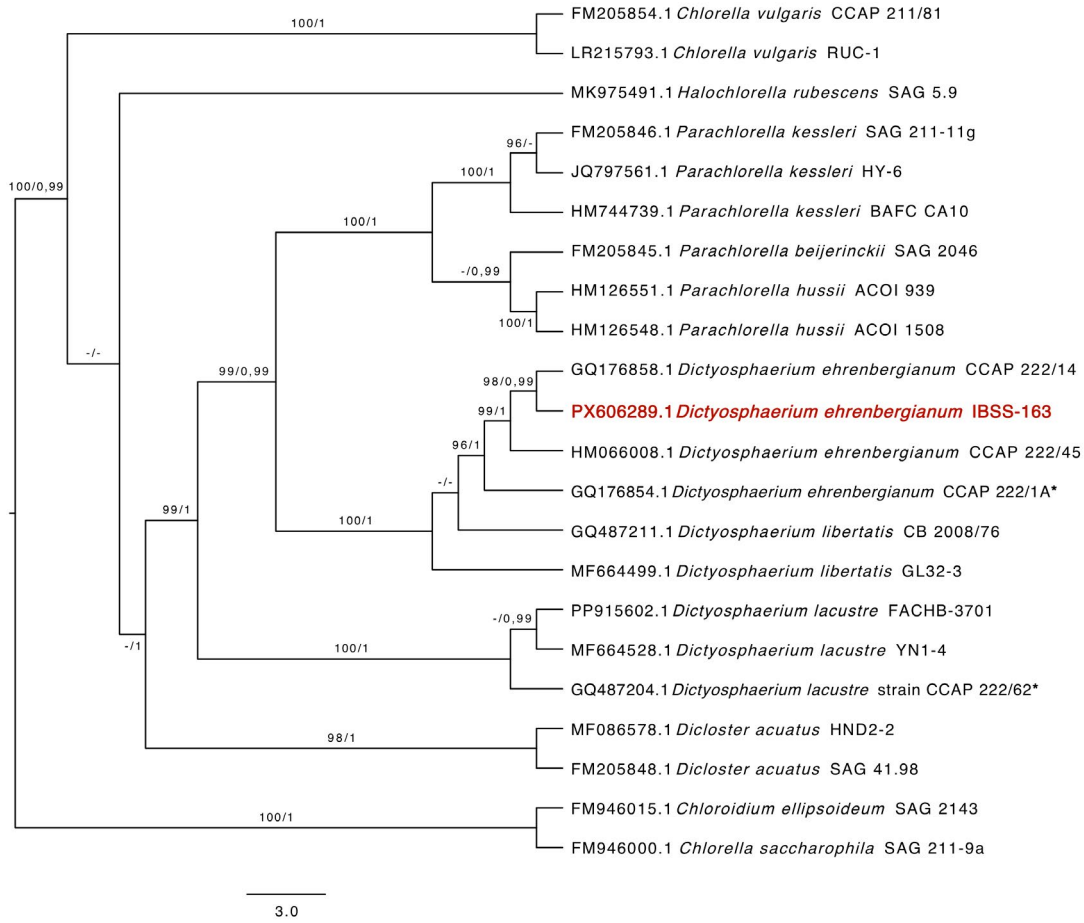


Рис.3. Положение нового штамма IBSS-163 на филогенетическом дереве отдельных представителей семейства Chlorellaceae, реконструированном методом максимального правдоподобия (ML) по последовательности ITS-области рДНК. Значения поддержки узлов указаны в формате BS/PP (процент бутстрепподдержки / байесовская постериорная вероятность); на дереве отображены только узлы с BS ≥ 85 и PP ≥ 0.85. Аутентичные штаммы отмечены символом (*)

.

Местообитание

Штамм получен из красного водорослевого налёта на пластиковой ёмкости с пресной водой, которая длительное время находилась на открытом воздухе (Точка 3, Таблица 1). Идентифицирован как аэрофит.

Морфология и биология

На агаризованной питательной среде колонии выделенного штамма одиночные темно-зеленого цвета, по мере старения приобретают ярко-оранжевый цвет. В жидкой культуре клетки веретеновидной, яйцевидной или эллипсоидной формы с пристеночным и чашевидным хлоропластом, отчетливо видимым одним пиреноидом (Рис. 4 А, Б).

Размеры клеток варьируют в пределах 6,5–12,5 мкм в длину и 2,8–9,7 мкм в ширину. Морфологические признаки штамма соответствуют признакам, типичным для рода *Coelastrella,* определенного Chodat в 1922 году. Так же следует отметить характерную особенность для этого вида, согласно Wang et al. (2019) – это наличие асимметрично вытянутых эллипсоидальной формы молодых клеток, иногда заостренными только с одного конца.

Бесполое размножение путем образования автоспор (по 2–4), перед делением клетки приобретали округлую форму. Половой процесс не наблюдали. На изображениях СЭМ клеток заметна характерная скульптура клеточной оболочки в виде меридиональных ребер (в основном по 10–14), сходящихся к полюсам клетки (Рис. 4 В, Г).

На основании комплексного анализа морфологических и молекулярно-генетических признаков новый штамм IBSS-98 идентифицирован как *Coelastrella thermophila.*

Штамм IBSS-164 *Tetradesmus obliquus* (Turpin) M.J.Wynne 2016 (Chlorophyceae, Sphaeropleales, Scenedesmaceae)

Местообитание

Штамм изолирован из эвтрофных солоноватых вод озера Кызыл-Яр, расположенного в степной зоне вблизи западного побережья Крыма. Проба была отобрана в августе в наиболее удаленной от моря части озера (Точка 2, Таблица 1).

Морфология и биология

На агаризованной питательной среде колонии выделенного штамма мелкие темно-зеленого цвета, при длительном хранении (в течение 2-х месяцев) приобретают желто-зеленый оттенок. В жидкой культуре клетки одиночные овальной или веретеновидной формы и в виде ценобиев, состоящих из четырех клеток без слизистой оболочки, расположенными в одной плоскости (Рис. 5 А, Б). Хлоропласт пристеночный, заполняющий внутреннюю поверхность клетки и один пиреноид вблизи центра клетки.

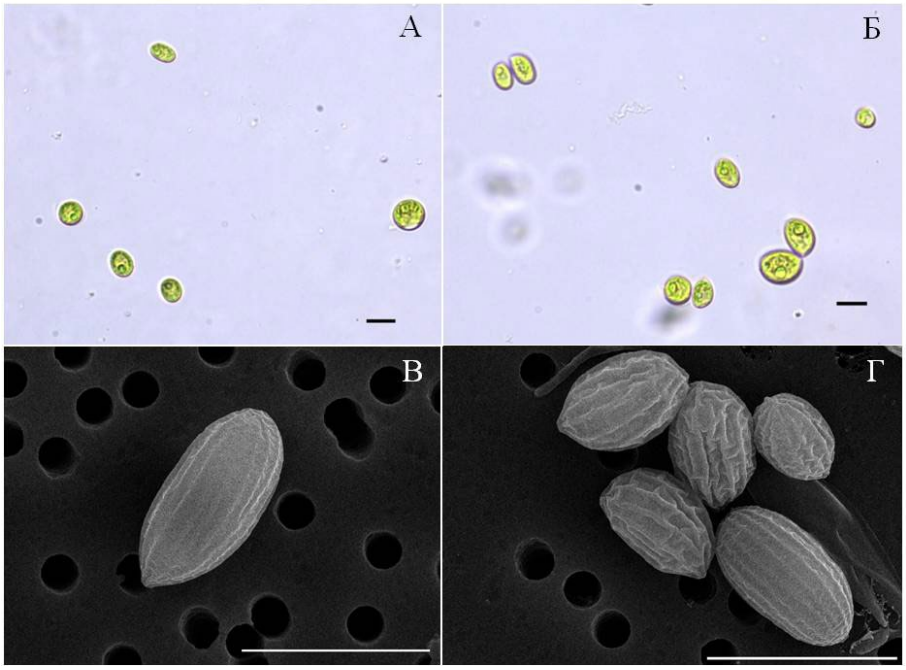


Рис.4. Изображения молодых вегетативных клеток штамма IBSS-98 C*oelastrella thermophila*: А, Б – СМ; В, Г – СЭМ, шкала 10 мкм.

Размеры клеток варьируют в пределах 3,5–6,5 мкм в длину и 1,7–4,7 мкм в ширину. По мере старения культуры клетки в основном встречаются в виде ценобиев. На изображении СЭМ поверхность клеточной стенки гладкая с полярными утолщениями и редкими меридиональными ребрами (Рис. 5 В, Г).

Размножение бесполое автоспорами по 2–4, без образования зооспор. Половой процесс не наблюдали.

По совокупности морфологических признаков, и в частности по размеру и форме клеток, порядка их организации в ценобий (Cho and Lee, 2024), штамм IBSS-164 полностью соответствует описанию *Tetradesmus obliquus* (Oliveira et al., 2021; Cho and Lee, 2024), что подтверждается данными молекулярно-генетических исследований.

Штаммы IBSS-167, IBSS-171 *Desmodesmus multivariabilis* E.Hegewald, Antal Schmidt, A.Braband & P.M.Tsarenko 2005 (Chlorophyceae, Sphaeropleales, Scenedesmaceae).

Местообитание

Два штамма одного вида изолированы из застойных вод каскадной системы скальных ванн на склоне г. Легенер массива Карадаг (Точка 4, Таблица 1), отобранных в августе. Пробы независимы ввиду отсутствия гидрологической связи между объектами на момент отбора.

Морфология и биология

На агаризованной питательной среде колонии обоих штаммов темно-зеленого цвета. В жидкой культуре встречаются как одиночные клетки овальной формы, так и непостоянное количество

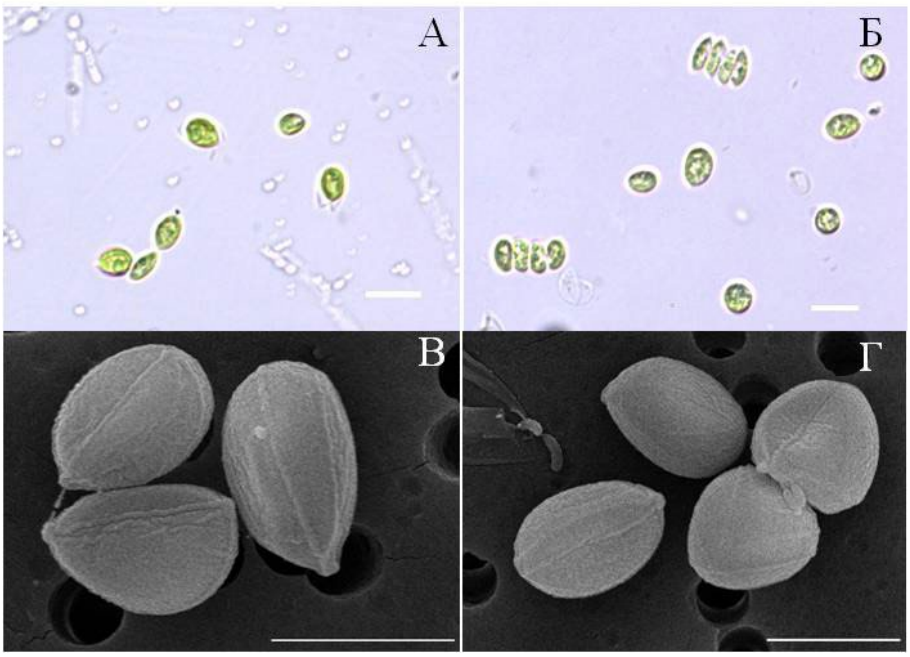


Рис.5. Изображения молодых клеток штамма IBSS-164 *Tetradesmus obliquus*: А, Б – СМ, шкала 10 мкм; В, Г – СЭМ, шкала 5 мкм.

клеток в ценобиях (по 2–4 клетки) расположенных в одной плоскости, что говорит о плеоморфности водоросли на разных стадиях роста и развития (Рис. 6).

Клетки неподвижные, под световым микроскопом эпиструктуры в виде боковых «шипиков» и «рогов» не заметны. Размеры клеток варьируют в пределах 3–8 мкм в длину и 2–7 мкм в ширину. Хлоропласт занимает большую часть объема клетки с одним четко выраженным круглым пиреноидом. На снимках, полученных при помощи СЭМ на поверхности клеточной оболочки отчетливо заметны мелкие бородавки и немногочисленные роговидные отростки одинаковой длины, расположенные перпендикулярно клеточной оболочке (Рис. 6). Вдоль клетки неровные и бугристые меридиональные ребра, которые могут быть целыми или частично редуцированными.

Размножение бесполое с образованием автоспор, половой процесс не отмечен.

Оба штамма соответствуют описанию, представленному в литературе (Gorelova et al., 2015; Demura et al., 2021; Xu et al., 2024). На основании морфологических признаков и результатов филогенетического анализа штаммы IBSS-167 и IBSS-171 идентифицированы как *Desmodesmus multivariabilis*.

Штамм IBSS-163 *Dictyosphaerium ehrenbergianum* Nägeli 1849 (Trebouxiophyceae, Chlorellales, Chlorellaceae).

Местообитание

Штамм изолирован из солоноватых вод (2‰) кутовой части озера Донузлав с глубинами 3–4 м, отгороженной от основной акватории (Точка 1, Таблица 1).

Морфология и биология

На агаризованной питательной среде колонии выделенного штамма одиночные ярко-зеленого цвета. В жидкой культуре клетки в виде свободноплавающих колоний, состоящих из 4-х и более крестообразно расположенных симметричных клеток овальной (яйцевидной) формы, прикрепленных к слизистым желатинизированным тяжам боками в поперечном положении клеток (Рис. 7 А, Б). Тяжи идут радиально от центра колонии и разделяются дихотомически или тетратомически. Размеры молодых клеток в пределах 4,5–6,5 мкм в длину и 2,5–5 мкм в ширину. Более старые колонии состоят из 8–16 округлых клеток на концах слизистых тяжей в виде «соцветий», иногда могут быть окружены слизистыми оболочками.

Отмечено размножение фрагментацией колонии на сегменты, состоящие из 4-х крестообразно расположенных клеток на слизистых тяжах (Рис. 7 Б). Хлоропласт пристеночный с одним пиреноидом. На изображении СЭМ поверхность клеточной оболочки и слизистые тяжи покрыты бородавками (Рис. 7 Г, Д). По мере старения культуры наблюдали незначительное увеличение размеров клеток в пределах 4,5–7,5 мкм в длину и 3,5–5 мкм в ширину, и уплотнение колоний, из-за чего слизистые тяжи не визуализировались (Рис. 7 В). Зрелые колонии распадались на отдельные одиночные клетки вследствие потери слизистых стеблей (Рис. 7 Е).

На основании морфологических признаков (Bock, 2010) и результатов молекулярно-генетического анализа (Рис. 3), новый штамм IBSS-163 идентифицирован как *Dictyosphaerium ehrenbergianum*.

4. Обсуждение

Роль национальных и региональных коллекций культур микроводорослей в развитии биотехнологий и сохранении биоразнообразия неоднократно подчёркивалась в литературе (Kurpan et al., 2025; Lourenço, 2020). В этом контексте расширение коллекции каротиногенных микроводорослей ФИЦ ИнБЮМ приобретает особую значимость: с 2021 года число поддерживаемых штаммов увеличилось с 44 до 131, при этом доля местных изолятов (Крым и причерноморские районы Кавказа) возросла с 25 до 40%. Целенаправленный скрининг альгофлоры Крыма позволил выделить около 40 новых штаммов в чистой культуре, требующих детального таксономического и биотехнологического описания.

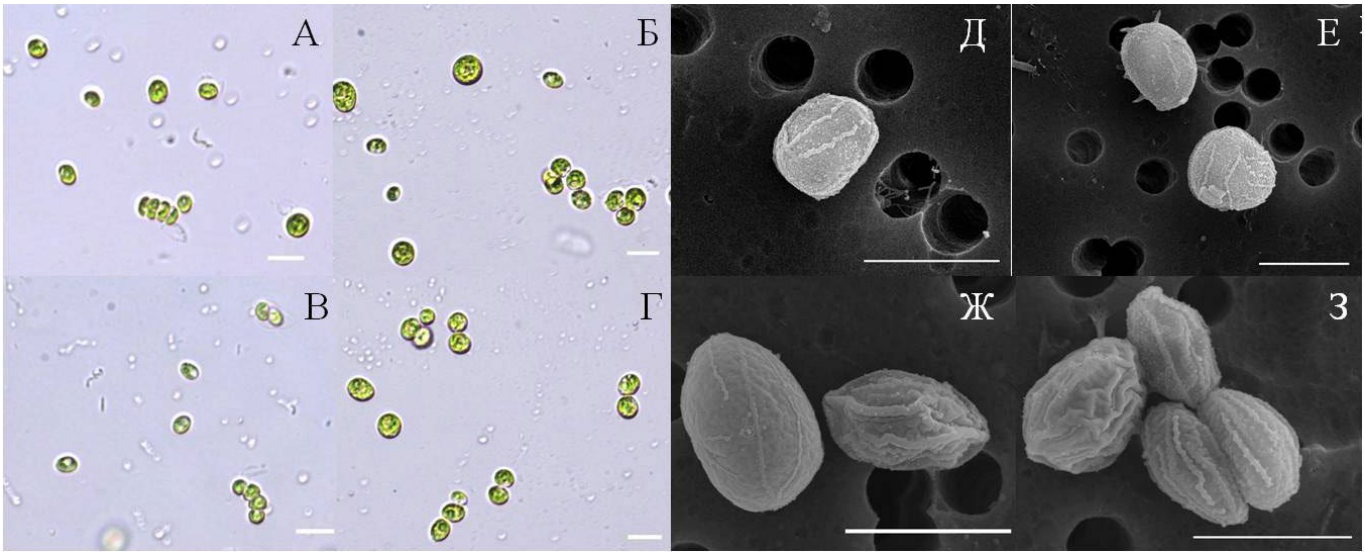


Рис.6. Изображения клеток *Desmodesmus multivariabilis*: А, Б – СМ штамма IBSS-167, В, Г– СМ штамма IBSS-171, шкала 10 мкм; Д, Е – СЭМ штамма IBSS-167, Ж, З – СЭМ штамма IBSS-171, шкала 5 мкм.

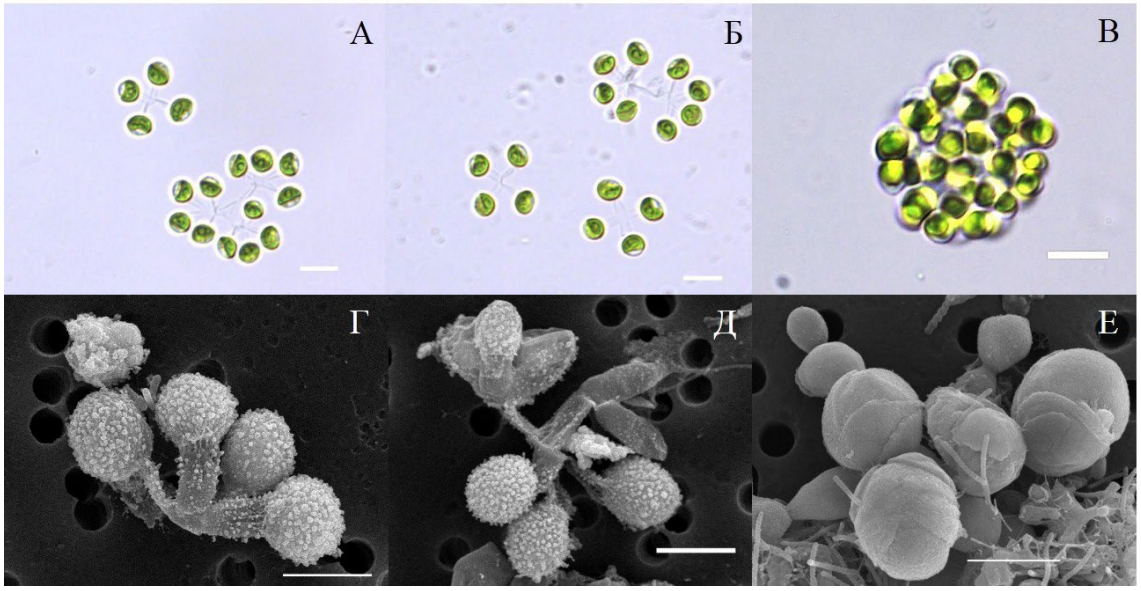


Рис.7. Изображения клеток штамма IBSS-163 *Dictyosphaerium ehrenbergianum*: А, Б – СМ, молодые колонии; В – СМ, зрелая колония (3-х недельная культура), шкала 10 мкм; Г, Д – СЭМ, молодые колонии, Е – СЭМ, зрелые клетки без оболочки, шкала 5 мкм.

Таксономическая идентификация пяти изолятов была выполнена с применением интегративного подхода, сочетающего молекулярно-генетические методы и морфологические данные (световая и электронная микроскопия). Видовая принадлежность изолятов обоснована методами молекулярной филогении и согласуется с описанными в литературе морфологическими, экологическими и онтогенетическими характеристиками соответствующих таксонов (Komárek and Fott, 1983; Царенко, 1990; Андреева, 1998).

Определение наиболее подходящих молекулярных маркеров для видовой дифференциации зелёных водорослей остаётся предметом методических обсуждений, что связано с серьёзными ограничениями морфологического подхода – высокой внутривидовой изменчивостью и сходством близких таксонов. В настоящем исследовании для молекулярной идентификации новых штаммов был использован филогенетический анализ ITS-региона, маркера, широко применяемого для разрешения таксономических вопросов у зелёных микроводорослей наряду с традиционными баркодами (SSU, *rbs*L, *tuf*A) (Hoshina, 2014; Proeschold and Darienko, 2020; Krivina et al., 2024; 2025; Temraleeva and Bukin, 2022).

Полученные филогенетические реконструкции демонстрируют однозначное размещение всех новых штаммов внутри четырёх отдельных ветвей с высокой поддержкой узлов; эти ветви соответствуют видам *Desmodesmus multivariabilis*, *Tetradesmus obliquus*, *Coelastrella thermophila* (Chlorophyceae) и *Dictyosphaerium ehrenbergianum* (Trebouxiophyceae). Генетические дистанции, рассчитанные с использованием модели K2P для ITS-региона, позволяют эффективно разграничивать уровни внутри- и межвидовой изменчивости: внутривидовые значения, как правило, не превышают 2,2%, тогда как дистанции между близкородственными видами варьируют в диапазоне 3–4% и могут достигать 8–9% для более отдалённых видов. Наблюдаемые значения генетических дистанций согласуются с данными, полученными для региона ITS2 (Hoshina, 2014). Таким образом, анализ ITS-региона позволяет надёжно дифференцировать виды в пределах исследованных монофилетических линий Chlorophyceae и Trebouxiophyceae. Вместе с тем разрешение внутривидовой структуры и идентификация потенциально новых видов требуют привлечения дополнительных маркеров. Согласно современным рекомендациям, для этих целей целесообразно использовать детальный анализ структуры ITS2-региона, а также мультигенные реконструкции на основе конкатенированных последовательностей рибосомальных и пластидных генов либо полного пластидного генома (Krivina et al., 2025; Cho and Lee, 2024).

Все идентифицированные штаммы являются новыми для коллекции ИнБЮМ и впервые выделены в чистую культуру из крымской альгофлоры. С учётом литературных данных о способности представителей этих таксонов к накоплению ценных биологически активных соединений, они представляют интерес как потенциальные биотехнологические продуценты (см. Таблица 2).

Все выделенные виды являются космополитами и отличаются высоким уровнем экологической пластичности, что позволяет им колонизировать разнообразные местообитания (Таблица 2). Большинство представителей родов *Coelastrella*, *Tetradesmus* и *Desmodesmus* относятся к аэрофитам и обычно встречаются на поверхности почвы, скальных и бетонных субстратах, кирпичных стенах и коре деревьев. В отличие от них, представители рода *Dictyosphaerium* – широко распространённые обитатели пресноводных водоемов, способные формировать их «цветения» (Bock, 2010; Scoculi de Lira et al., 2025). Места отбора наших изолятов полностью соответствуют типичным биотопам, характерным для естественного распространения идентифицированных штаммов микроводорослей.

Таблица 2. Систематизация литературных данных о новых для коллекции IBSS видах микроводорослей: биотопы, биологически активные вещества, области применения, представленность в коллекциях.

Вид микроводоросли	Биотопы	Биоактивные вещества	Применение	Коллекции, где представлен вид
Coelastrella thermophila	Водные, почвенные, влажные поверхности, экстремальные [6,5,2]	Каротиноиды, Липиды, ПНЖК [6] Липиды, МНЖК, НЖК [5]	Биоэнергетика Космецевтика и фармацевтика [6,5]	SYKOA, FACHB, CCCryo, SAG
Tetradesmus obliquus	Водные (в т. ч. скальные ванны) [9,13]	Каротиноиды, лютеин [13] Липиды, МНЖК, НЖК [9]	Биоэнергетика, фармацевтика и нутрицевтика [9,12,8]	UTEX, SAG, CCAP, VKM
Desmodesmus multivariabilis	Водные (пресные, солоноватые); почвенные; симбионт донных беспозвоночных [7]	ПНЖК [1]	Фармацевтика и нутрицевтика [1] Биоремедиация [11]	BCAC, CCAP, SAG, UTEX, VCA, TAU-MAC, FBCC
Dictyosphaerium ehrenbergianum	Водные (пресные, солоноватые) [3,4]	Липиды, МНЖК, НЖК [10,4]	Биоэнергетика [10,4]	CALU, CCAP, UTEX, FACHB

Примечание:

ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты; МНЖК – мононенасыщенные жирные кислоты; НЖК – насыщенные жирные кислоты.

[1]Akgül and Kösel, 2023; [2]Baldanta et al., 2025; [3]Bock, 2010; [4]Borah et al., 2018; [5]Boutarfa et al., 2022; [6]Goecke et al., 2020; [7]Gorelova et al., 2015; [8]Huang et al., 2025; [9]Ismagulova et al., 2018; [10]Jiang et al., 2018; [11]Onyancha et al.2022; [12]Scoculi de Lira et al., 2025; [13]Ünüvar and Ünlü, 2022.

SYKOA Коллекция живых штаммов микроводорослей Института биологии Коми Нц Уро Ран (http://ib.komisc.ru:8008/sykoa/collection/)

VKM Всероссийская коллекция микроорганизмов (http://www.vkm.ru/rus/Catalogue.htm)

FACHB Коллекция культур пресноводных водорослей Китайской академии наук (http://english.ihb.cas.cn/research/platforms/npmp/202012/t20201202_255451.html)

CCCryo Коллекция культур криофильных водорослей (https://www.izi-bb.fraun)

SAG – Коллекция культур водорослей Гёттинского университета (https://www.unigoettingen.de/de/184982.html)

UTEX – Коллекция культур водорослей Техасского университета (https://utex.org/)

CCAP Коллекция культур водорослей и простейших (https://www.ccap.ac.uk/)

BCAC Коллекции водорослей и цианобактерий Башкортостана

CALU Коллекция цианобактерий, водорослей и паразитов водорослей

VCA Коллекция цианобактерий и водорослей лаборатории ботаники ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН

TAU-MAC Коллекция культур микроводорослей и цианобактерий (http://cyanobacteria.myspecies.info)

FBCC Коллекция культур пресноводных биоресурсов (https://fbp.nnibr.re.kr/fbcc/?lang=en)

В условиях неблагоприятных внешних факторов, таких как обезвоживание, солевой стресс, высокая инсоляция и азотное голодание, микроводоросли родов *Coelastrella*, *Tetradesmus*, *Desmodesmus* и *Dictyosphaerium* активно накапливают липиды, преимущественно в форме триацилглицеринов (ТАГ) (Ancona-Canché et al., 2017; Zhu et al., 2020), что делает их перспективным сырьём для производства биотоплива третьего поколения (Jaremko et al., 2023).

Данные литературы подтверждают высокую способность этих таксонов к накоплению липидов. В стрессовых условиях содержание общих липидов в биомассе *Tetradesmus* и *Desmodesmus* достигает 20–56% и 36–58% соответственно; при этом доля целевых ТАГ у *Desmodesmus* может составлять до 64–78% от общего пула липидов (Ismagulova et al., 2018; Pan et al., 2011; Oliveira et al., 2021; do Carmo Cesário et al., 2022). Липидная фракция *Coelastrella* и *Dictyosphaerium* также обладает значительным потенциалом (до 18% и выше) и характеризуется профилем жирных кислот, благоприятным для производства биодизеля, а в частности, высоким содержанием ненасыщенных жирных кислот, включая мононенасыщенные (МНЖК) и полиненасыщенные (ПНЖК) (Jiang et al., 2018; Thepsuthammarat et al., 2023; Boutarfa et al., 2022; Nayana et al., 2025). Таким образом, сочетание высокой продуктивности по липидам и оптимального жирнокислотного состава обосновывает возможность использования данных микроводорослей в качестве альтернативного сырья для биодизеля (Borah et al., 2018).

Помимо значимости для биоэнергетики, микроводоросли родов *Coelastrella*, *Tetradesmus* и *Desmodesmus* представляют интерес как источники биологически активных соединений для фармацевтики и производства функциональных продуктов питания (Oliveira et al., 2022; Akgül and Kösel, 2023). Ключевым преимуществом этих таксонов является их способность синтезировать полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК), в особенности соединения омега-3 ряда. Согласно опубликованным данным, содержание ПНЖК у *Desmodesmus* может достигать 54–72% от суммы жирных кислот (Akgül and Kösel, 2023; Shin et al., 2025), а у *Coelastrella* – до 45–65% (Goecke et al., 2020; Minyuk et al., 2017; Boutarfa et al., 2022); при этом отдельные штаммы рассматриваются как перспективные продуценты

α-линоленовой кислоты (Goecke et al., 2020; Maltsev et al., 2021). Вариабельность жирнокислотного профиля, обусловленная видовой принадлежностью и условиями культивирования, позволяет целенаправленно получать липидные фракции с заданными свойствами – от обогащённых МНЖК до высоконасыщенных ценными ПНЖК (Oliveira et al., 2021; Boutarfa et al., 2022), что расширяет спектр их промышленного применения.

Изученные микроводоросли характеризуются выраженным антиоксидантным потенциалом, что расширяет спектр их применения в пищевой промышленности, фармацевтике и аквакультуре. В частности, *Tetradesmus obliquus* отличается высоким содержанием фенольных соединений, флавоноидов и каротиноидов (do Carmo Cesário et al., 2022). Особый интерес представляют виды рода *Coelastrella*: они способны ко вторичному каротиногенезу и накоплению астаксантина – ценного пигмента с иммуномодулирующими, кардиопротекторными и нейропротекторными свойствами (Maltsev et al., 2021; Minyuk et al., 2017; Ismagulova et al., 2018; Chekanov, 2023). Способность активно синтезировать астаксантин экспериментально подтверждена для многих видов, включая *C. terrestris*, *C. aeroterrestrica* и *C. thermophila var. globulina* (Chekanov, 2023; Goecke et al., 2020). При этом использование двухстадийных схем культивирования (на примере *C. rubescens*) позволяет добиться технологически значимой продуктивности по данному пигменту (Chubchikova et al., 2010; Minyuk et al., 2017).

Помимо биотехнологической ценности, микроводоросли указанных четырёх родов перспективны для применения в биоремедиации. Эффективные механизмы биосорбции и детоксикации позволяют им накапливать значительные количества тяжёлых металлов, пестицидов и остатков фармацевтических препаратов, что это даёт возможность использовать их как для очистки, так и для мониторинга загрязнённых экосистем (Luo et al., 2016; Alwaleed et al., 2025; Onyancha et al., 2022). Эффективность такого подхода подтверждена при фиторемедиации сточных вод, в том числе сельскохозяйственных и промышленных (Baldanta et al., 2025; Ogbonna et al., 2021).

5. Заключение

В рамках реализации проекта по созданию биоресурсной коллекции каротиногенных микроводорослей крымского региона из экстремальных биотопов различной природы в западной и юго-восточной частях Крыма были выделены пять новых штаммов зелёных водорослей. Их видовая принадлежность была определена на основе интегративного подхода. Полученные штаммы являются новыми для коллекции ФИЦ ИнБЮМ видами, впервые изолированными из альгофлоры Крыма. Они принадлежат к родам *Coelastrella*, *Tetradesmus*, *Desmodesmus* и *Dictyosphaerium*, представляя собой ценный биологический ресурс. Для всесторонней оценки их биотехнологического потенциала необходимо проведение ряда исследований, включающих уточнение эволюционных связей изучаемых штаммов, физиологические исследования механизмов регуляции внутриклеточного метаболизма в ответ на комплексное воздействие стрессовых факторов окружающей среды. Важным направлением является разработка экономически эффективных методов культивирования, в том числе создание специализированных протоколов для направленного накопления биомассы и целевых метаболитов. Создаваемая коллекция живых культур выступает в качестве экспериментальной базы для проведения комплексных исследований и служит инструментом сохранения видового разнообразия. Она закладывает фундамент для развития новой хозяйственной отрасли в Крыму – промышленного культивирования каротиногенных микроводорослей. Это направление имеет значительный потенциал для производства биологически активных кормовых и пищевых добавок, косметики и технических липидов, что открывает широкие перспективы практического применения полученных результатов.

Благодарности

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российским научным фондом, грант № 24-26-20121 «Создание биоресурсной коллекции каротиногенных водорослей крымского региона» (№ гос. регистрации 124102900026-9) и в рамках государственного задания «Комплексное исследование механизмов функционирования морских биотехнологических комплексов с целью получения биологически активных веществ из гидробионтов» (№124022400152-1).

Авторы выражают искреннюю благодарность коллективу Карадагской научной станции за организацию экспедиции, а также В.В. Губанову (м.н.с. отдела ихтиологии, ФИЦ ИнБЮМ) за определение солености воды.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конкурирующих интересов.

Список литературы

Андреева В.М. 1998. Почвенные и аэрофильные зелёные водоросли (Chlorophyta: Tetrasporales, Chlorococcales, Chlorosarcinales). Санкт-Петербург: Наука.

Данцюк Н.В., Челебиева Э.С., Минюк Г.С. 2021. Рабочая коллекция живых культур каротиногенных микроводорослей Института биологии южных морей имени А. О. Ковалевского. Морской биологический журнал 6(4): 3–18. DOI: 10.21072/mbj.2021.06.4.01

Дворецкий Д.С., Темнов М.С., Маркин И.В. и др. 2022. Вопросы разработки эффективной биотехнологии синтеза ценных компонентов из биомассы микроводорослей. Теоретические основы химической технологии 56(4): 418. DOI: 10.31857/S0040357122040029

Мокросноп В.М., Золотарёва Е.К. 2012. Влияние фунгицидов на рост культуры микроводоросли *Euglena gracilis* Klebs (Euglenophyta). Альгология 22(4): 337–344.

Рылькова О.А., Боровков А.Б., Ханайченко А.Н. и др. 2023. Особенности пробоподготовки образцов монадных форм микроводорослей для сканирующей электронной микроскопии. Биоразнообразие и устойчивое развитие 8(4): 62–74. DOI: 10.21072/eco.2023.28.05

Рябушко В.И., Щуров С.В., Ковригина Н.П. и др. 2021. Гидролого-гидрохимические и гидробиологические исследования озера Донузлав (Западный Крым, Чёрное море) по результатам экспедиций 2018 года. Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон моря 2: 80–93. DOI: 10.22449/2413-5577-2021-2-80-93

Темралеева А.Д., Синетова М.А. 2023. Коллекции микроводорослей и цианобактерий в России: современное состояние, проблемы и перспективы развития. Микробиология 92(5): 429–440. DOI: 10.31857/S0026365623600232

Темралеева А.Д., Минчева Е.В., Букин Ю.С. и др. 2014. Современные методы выделения, культивирования и идентификации зелёных водорослей (Chlorophyta). Кострома: Костромской печатный дом.

Царенко П.М. 1990. Краткий определитель хлорококковых водорослей Украинской ССР. Киев: Наукова думка.

Чубчикова И.Н., Дробецкая И.В., Данцюк Н.В. и др. 2022. Оптимизация метода фиксации пресноводных микроводорослей (Scenedesmaceae, Chlorophyta) для первичной идентификации с использованием сканирующей электронной микроскопии. Вопросы современной альгологии 1(28): 102–109. DOI: 10.33624/2311-0147-2022-1(28)-102-109

Akgül F., Kösel S. 2023. Phenotypic plasticity, growth, biochemical composition, total phenolic content, and antioxidant activity of microalga *Desmodesmus multivariabilis* under different nitrogen and phosphorus concentrations. Chemical and Biochemical Engineering Quarterly 37(4): 273–288. DOI: 10.15255/CABEQ.2023.2199

Alwaleed E.A., Galal H.R.M., Aboueldahab M. et al. 2025. Maximizing lipid accumulation in *Tetradesmus obliquus* under heavy metal stress for sustainable biodiesel innovation. BMC biotechnology 25(1): 20. DOI: 10.1186/s12896-025-00951-z

Ancona-Canché K., López-Adrián S., Espinosa-Aguilar M. et al. 2017. Molecular phylogeny and morphologic data of strains of the genus *Coelastrella*. Botanical Sciences 95: 527–537. DOI: 10.17129/BOTSCI.1201

Baldanta S., Ferreira A., Marco Vinuesa A.V. et al. 2025. A solar panel-origin microalga, *Coelastrella thermophila* D14, with high potential for wastewater biotechnology. Applied Microbiology and Biotechnology 109: 246. DOI: 10.1007/s00253-025-13618-8

Bischoff H.W., Bold H.C. 1963. Some soil algae from enchanted rock and related algal species. In: Phycological Studies IV. 6318: 1–95. USA: University of Texas.

Bock C. 2010. Genetic diversity and polyphyletic origin of the *Dictyosphaerium morphotype*. Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades des Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.), Institut für Biologie/Zoologie der Freien Universität, Berlin. DOI: 10.17169/refubium-15273

Borah N., Venkatesh H.N., Sudharshana T.N. et al. 2018. Isolation and utilization of *Dictyosphaerium ehrenbergianum* Nageli for biodiesel production: lipid extraction and biodiesel property analysis. Biofuels 11(8): 885–892. DOI: 10.1080/17597269.2018.1432270

Boutarfa S., Senoussi M.M., Gonzalez-Silvera D. et al. 2022. The Green Microalga *Coelastrella thermophila var. globulina* (Scenedesmaceae, Chlorophyta) isolated from an Algerian hot spring as a potential source of fatty acids. Life 12(4): 560. DOI: 10.3390/life12040560

Chekanov K. 2023. Diversity and distribution of carotenogenic algae in Europe: a review. Marine Drugs 21: 108. DOI: 10.3390/md21020108

Cho H.S., Lee J.M. 2024. Taxonomic reinvestigation of the genus *Tetradesmus* (Scenedesmaceae; Sphaeropleales) based on morphological characteristics and chloroplast genomes. Frontiers in Plant Science 15: 1303175. DOI: 10.3389/fpls.2024.1303175

Chubchikova I.N., Minyuk G.S., Drobetskaya I.V. 2010. Secondary carotenogenesis in green microalgae *Scotiellopsis rubescens* Vinatz. under natural insolation and temperature. Ekologiya Morya 81: 77–81.

Debnath T., Bandyopadhyay T.K., Vanitha K. et al. 2024. Astaxanthin from microalgae: A review on structure, biosynthesis, production strategies and application. Food Research International 176: 113841. DOI: 10.1016/j.foodres.2023.113841

Demura M., Noma S., Hayashi N. 2021. Species and fatty acid diversity of *Desmodesmus* (Chlorophyta) in a local Japanese area and identification of new docosahexaenoic acid-producing species. Biomass 1: 105–118. DOI: 10.3390/biomass1020008

do Carmo Cesário C., Soares J., Cossolin J.F.S. et al. 2022. Biochemical and morphological characterization of freshwater microalga *Tetradesmus obliquus* (Chlorophyta: Chlorophyceae). Protoplasma 259(4): 937–948. DOI: 10.1007/s00709-021-01712-3

Elsayed M., Eraky M., Faisal S. et al. 2024. Phycochemicals. In: Abomohra A., Ende S. (eds.), Value-added products from algae. Cham, Switzerland: Springer International Publishing AG Springer, pp. 71–95. DOI: 10.1007/978-3-031-42026-9_4

Ende S., Abomohra A. 2024. Opening the Algal Gateway. In: Abomohra A., Ende S. (eds.) Value-added Products from Algae. Cham, Switzerland: Springer International Publishing AG Springer, pp. 1–9. DOI: 10.1007/978-3-031-42026-9_1

Glibert P.M. 2024. Endosymbiosis and Evolution. In: Phytoplankton Whispering: An Introduction to the Physiology and Ecology of Microalgae. Cham, Switzerland: Springer International Publishing AG Springer, pp. 213–227. DOI: 10.1007/978-3-031-53897-1_10

Goecke F., Noda J., Paliocha M. et al. 2020. Revision of *Coelastrella* (Scenedesmaceae, Chlorophyta) and first register of this green coccoid microalga for continental Norway. World Journal of Microbiology and Biotechnology 36(10): 149. DOI: 10.1007/s11274-020-02897-0

Gorelova O.A., Baulina O.I., Solovchenko A.E. et al. 2015. Similarity and diversity of the *Desmodesmus* spp. microalgae isolated from associations with White Sea invertebrates. Protoplasma 252: 489–503. DOI: 10.1007/s00709-014-0694-0

Guiry M.D., Guiry G.M. 2026. AlgaeBase. World-Wide Electronic Publication, University of Galway. URL: https://www.algaebase.org/search/species/ (accessed: 02.02.2026).

Hildebrand M., Abbriano R.M., Polle J.E. et al. 2013. Metabolic and cellular organization in evolutionarily diverse microalgae as related to biofuels production. Current opinion in chemical biology 17(3): 506–514. DOI: 10.1016/j.cbpa.2013.02.027

Hoshina R. 2014. DNA analyses of a private collection of microbial green algae contribute to a better understanding of microbial diversity. BMC Research Notes 7: 592. DOI: 10.1186/1756-0500-7-592

Huang D., Yu Q., Long J. et al. 2025. Nitrogen source determines the growth and morphology of *Tetradesmus obliquus* by concentration-dependent pattern. Journal of Applied Phycology 37: 2259–2270. DOI: 10.1007/s10811-025-03533-w

Ismagulova T., Chekanov K., Gorelova O. et al. 2018. A new subarctic strain of *Tetradesmus obliquus* – Part I: Identification and fatty acid profiling. Journal of Applied Phycology 30: 2737–2750. DOI: 10.1007/s10811-017-1313-1

Jaremko M., Tomar S., Agarwal S. et al. 2023. Microalgae:

A promising source for biofuel production. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology 53: 102877. DOI: 10.1016/J.BCAB.2023.102877

Jiang Y., Pu X., Zheng D. et al. 2018. Cultivation of lipid-producing microalgae in struvite-precipitated liquid digestate for biodiesel production. Biotechnology for Biofuels 11: 101. DOI: 10.1186/s13068-018-1102-3

Kan Y., Pan J. 2010. A one-shot solution to bacterial and fungal contamination in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* culture by using an antibiotic cocktail. Journal of Phycology 46(6): 1356–1358. DOI: 10.1111/j.1529-8817.2010.00904.x

Katoh K., Toh H. 2010. Parallelization of the MAFFT multiple sequence alignment program. Bioinformatics 26(15): 1899–1900. DOI: 10.1093/bioinformatics/btq224

Kim G.M., Chang W.S., Kim Y.K. 2022. Biocomposites using whole or valuable component-extracted microalgae blended with polymers: A review. Catalysts 12(1): 25. DOI: 10.3390/catal12010025

Kimura M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. Journal of Molecular Evolution 16(2):111–120.

Komárek J., Fott B. 1983. Chlorophyceae (Grünalgen) Ordnung: Chlorococcales. In: Das Phytoplankton des Süsswassers (Band XVI, 6. Teil. Die Binnengewässer). (Huber-Pestalozzi, G. Eds). Stuttgart: E. Schweizerbart.

Krivina E., Sinetova M., Starikov A. et al. 2025. Testing the effectiveness of DNA barcoding markers and species delimitation methods within the genus *Coelastrella* (Sphaeropleales, Chlorophyta), with a description of *Coelastrella polaris* sp. nov. isolated from Arctic soils. Curr Microbiol 82: 311. DOI: 10.1007/s00284-025-04293-z

Krivina E., Sinetova M., Zadneprovskaya E. et al. 2024. The genus *Coelastrella* (Chlorophyceae, Chlorophyta): molecular species delimitation, biotechnological potential, and description of a new species *Coelastrella affinis* sp. nov., based on an integrative taxonomic approach. Antonie van Leeuwenhoek 117(1): 113. DOI: 10.1007/s10482-024-02008-1

Kurpan D., Cardeiras R., Bagnoud-Velásquez M. et al. 2025. Isolation, characterization, and maintenance of native Swiss microalgae for biotechnological prospection. Scientific Reports 15: 25573. DOI: 10.1038/s41598-025-10989-w

Lourenço S. 2020. Microalgae culture collections, strain maintenance, and propagation (Chapter 3). In: Handbook of microalgae-based processes and products: Fundamentals and advances in energy, food, feed, fertilizer, and bioactive compounds. Academic Press, pp. 49–84. DOI: 10.1016/B978-0-12-818536-0.00003-8

Luo L., He H., Yang C. et al. 2016. Nutrient removal and lipid production by *Coelastrella* sp. in anaerobically and aerobically treated swine wastewater. Bioresource Technology 216: 135–141. DOI: 10.1016/j.biortech.2016.05.059

Maltsev Y., Krivova Z., Maltseva S. et al. 2021. Lipid accumulation by *Coelastrella multistriata* (Scenedesmaceae, Sphaeropleales) during nitrogen and phosphorus starvation. Scientific Reports 11(1): 19818. DOI: 10.1038/s41598-021-99376-9

Minyuk G., Chelebieva E., Chubchikova I. et al. 2017. Stress-induced secondary carotenogenesis in *Coelastrella rubescens* (Scenedesmaceae, Chlorophyta), a producer of value-added keto-carotenoids. Algae 32(3): 245–259. DOI: 10.4490/algae.2017.32.8.6

Morgulis A., Coulouris G., Raytselis Y. et al. 2008. Database indexing for production MegaBLAST searches. Bioinformatics 24(16): 1757–1764. DOI: 10.1093/bioinformatics/btn322

Nayana K., Sudhakar M.P., Arunkumar K. 2025. Biorefinery potential of *Coelastrella* biomass for fuel and bioproducts – a review. Biomass Conversion and Biorefinery 15: 29613–29626. DOI: 10.1007/s13399-022-02519-9

Ogbonna I.O., Ikwebe J., Okpozu O.O. et al. 2021. Potential of *Dictyosphaerium* sp. LC172264: Concomitant remediation of cassava wastewater and accumulation of lipids for biodiesel production. Advances in Bioscience and Biotechnology 12(8): 257–274. DOI: 10.4236/abb.2021.128016

Oliveira C.Y.B., Jacob A., Nader C. et al. 2022. An overview on microalgae as renewable resources for meeting sustainable development goals. Journal of Environmental Management 320: 115897. DOI: 10.1016/j.jenvman.2022.115897

Oliveira C.Y.B., Oliveira C.D.L., Prasad R. et al. 2021. A multidisciplinary review of *Tetradesmus obliquus*: A microalga suitable for large-scale biomass production and emerging environmental applications. Reviews in Aquaculture 13: 1594–1618. DOI: 10.1111/raq.12536

Onyancha F.M., Haneklaus N.H., Brink H.G. 2022. Cultivation of *Desmodesmus multivariabilis* for the treatment of cosmetic wastewater. Sustainability 14(23): 15665. DOI: 10.3390/su142315665

Pan Y.-Y., Wang S.-T., Chuang L.-T. et al. 2011. Isolation of thermo-tolerant and high lipid content green microalgae: Oil accumulation is predominantly controlled by photosystem efficiency during stress treatments in *Desmodesmus*. Bioresource Technology 102: 10510–10517. DOI: 10.1016/j.biortech.2011.08.091

Proeschold T., Darienko T. 2020. The green puzzle *Stichococcus* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta): New generic and species concept among this widely distributed genus. Phytotaxa 441(2): 113–142. DOI: 10.11646/phytotaxa.441.2.2

Santos B., Freitas F., Sobral A.J.F.N. et al. 2025. Microalgae and circular economy: Unlocking waste to resource pathways for sustainable development. International Journal of Sustainable Engineering 18(1): 2501488. DOI: 10.1080/19397038.2025.2501488

Scoculi de Lira G., Severo I.A., Ferraz F.A. et al. 2025. Multiparametric evaluation of *Tetradesmus obliquus* biomass: An integrated approach including antioxidant, nutritional, and energy properties. Microorganisms 13: 1583. DOI: 10.3390/microorganisms13071583

Shadrin N.V., Simonov V.G., Anufriieva E.V. et al. 2018. Anthropogenic transformation of Kyzyl-Yar Lake in Crimea: Multiyear research findings. Arid Ecosystems 8: 299–306. DOI: 10.1134/S2079096118040091

Shin Y.-S., Do J.-M., Noh H.-S. et al. 2025. Exploring the potential of *Desmodesmus* sp. KNUA231 for bioenergy and biofertilizer applications and its adaptability to environmental stress. Applied Sciences 15: 5097. DOI: 10.3390/app15095097

Silva B.L., de Souza F.O., João J.J. et al. 2025. Algae-Filled Polypropylene: How Particle Size of *Nannochloropsis oculata* Biomass Affects Composite Properties. Polymer Engineering & Science 65(12): 6812–6822. DOI: 10.1002/pen.70166

Solovchenko A., Minyuk G. 2021. The physiology of astaxanthin production by carotenogenic microalgae. In: Ravishankar G.A., Ranga Rao A. (eds.), Global perspectives on astaxanthin: From industrial production to food, health, and pharmaceutical applications (Chapter 2). Academic Press, pp. 19–35. DOI: 10.1016/B978-0-12-823304-7.00026-X

Suchard M.A., Lemey P., Baele G. et al. 2018. Bayesian phylogenetic and phylodynamic data integration using BEAST 1.10. Virus Evolution 4(1): vey016. DOI: 10.1093/ve/vey016

Tamura K., Stecher G., Kumar S. 2021. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. 2021. Molecular Biology and Evolution 38: 3022–3027. DOI: 10.1093/molbev/msab120

Temraleeva A.D., Bukin Y.S. 2022. Morphology, molecular phylogeny, and species delimitation within microalgal genera *Eubrownia*, *Spongiococcum*, and *Chlorococcum* (Chlorophyceae,

Chlorophyta). South African Journal of Botany 151: 396–409. DOI: 10.1016/j.sajb.2022.10.030

Thepsuthammarat K., Reungsang A., Plangklang P. 2023. *Coelastrella* sp. cultivation on unhydrolyzed molasses-based medium towards the optimization of conditions for growth and biomass production under mixotrophic cultivation. Molecules 28: 3603. DOI: 10.3390/molecules28083603

Trifinopoulos J., Nguyen L.-T., von Haeseler et al A.. 2016. W-IQ-TREE: A fast online phylogenetic tool for maximum likelihood analysis. Nucleic Acids Research 44(1): W232–W235. DOI: 10.1093/nar/gkw256

Ünüvar Ö.C., Ünlü E.S. 2022. De Novo Assembly and Annotation of Microalga *Tetradesmus obliquus* Transcriptome. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 22(11): TRJFAS21341. DOI: 10.4194/TRJFAS21341

Wang Q., Song H., Liu X. et al. 2019. Morphology and molecular phylogeny of coccoid green algae Coelastrella sensu lato (Scenedesmaceae, Sphaeropleales), including the description of three new species and two new varieties. Journal of Phycology 55: 1290–1305.

White T.J., Bruns T., Lee S. et al. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: M.A. Innis, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky, T. White (Eds.), PCR protocols: A guide to methods and applications. Academic Press Inc, pp. 315–322. DOI: 10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1

Xu Y., Chen X., Melkonian M. et al. 2024. Comparative chloroplast genome analysis of two *Desmodesmus* species reveals genome diversity within Scenedesmaceae (Sphaeropleales, Chlorophyceae) Protist: 175(6): 126073. DOI: 10.1016/j.protis.2024.126073

Zhang Z., Schwartz S., Wagner L. et al. 2000. A greedy algorithm for aligning DNA sequences. Journal of Computational Biology 7(1–2): 203–214. DOI: 10.1089/10665270050081478

Zhu X., Wang Z., Sun Y. et al. 2020. Surfactants at environmentally relevant concentrations interfere the inducible defense of *Scenedesmus obliquus* and the implications for ecological risk assessment. Environmental pollution (Barking, Essex: 1987) 261: 114131. DOI: 10.1016/j.envpol.2020.114131

Flagellates and ciliates as biocontrol agents for cyanobacterial blooms

Original Article
LIMNOLOGY FRESHWATER BIOLOGY

Shchukina M.O.[1]*, Kiriukhin B.A.[1,2], Yaltsev G.S.[1,3], Jiang M.X.[4,5], Huo D.[6], Gong Y.C.[4], Tikhonenkov D.V.[1]

[1] *Papanin Institute for Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences, Borok 109, 152742, Russia*
[2] *AquaBioSafe Laboratory, University of Tyumen, Lenin Str., 25, Tyumen, 625003, Russia*
[3] *Ryazan State University named for S.A. Yesenin, Svobody Str., 46, Ryazan, 390000, Russia*
[4] *Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Donghu South Road, No. 7, Wuhan, 430072, China*
[5] *College of Advanced Agricultural Sciences, University of Chinese Academy of Sciences, Beichen West Road, No. 1, Beijing, 100049, China*
[6] *Hulunbuir University, No. 83 Xuefu Road, Hailar District, Hulunbuir, Inner Mongolia, 021008, China*

ABSTRACT. Harmful algal blooms (HABs), particularly cyanobacterial blooms, pose a significant global environmental threat. The existing physical and chemical control methods have significant limitations, highlighting the need for effective and environmentally safe alternatives. This review systematizes and analyses published and original data on the biotic interactions between flagellates, ciliates, and cyanobacteria and evaluates their potential as biocontrol agents. We demonstrate that mixotrophic flagellates of the genera *Ochromonas* and *Poterioochromonas* are the most promising candidates, as they combine resistance to toxic strains, the ability to actively graze on various cyanobacterial morphotypes, and the capacity to degrade secondary metabolites. Among ciliates, representatives of the genus *Nassula* show efficacy against filamentous forms. The efficacy of protist application is governed by multiple biotic and abiotic factors, including prey morphology, predator physiology, predator–prey cell ratios, environmental conditions, and interspecific interactions. Most studies are currently confined to laboratory experiments, and field validation is essential for technology scaling. Combined approaches that integrate biological control with physical or chemical methods are discussed, along with the potential use of machine learning for bloom forecasting and the optimization of inoculation parameters. We propose a conceptual design for a floating modular bioremediation station that combines biomass collection, ultrasonic colony disruption, protist-mediated grazing, and debris sedimentation as a potential solution. This work synthesizes current knowledge and outlines future research directions in protist-based biocontrol of cyanobacterial blooms.

Keywords: Protist, Harmful algal blooms, Heterotrophic flagellates, Ciliates, Cyanobacterial blooms

For citation: Shchukina M.O., Kiriukhin B.A., Yaltsev G.S., Jiang M.X., Huo D., Gong Y.C., Tikhonenkov D.V. Flagellates and ciliates as biocontrol agents for cyanobacterial blooms // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - P. 338-371. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-338

1. Introduction

Harmful algal blooms (HABs), which lead to the degradation of aquatic ecosystems, are pervasive problems worldwide (Huisman et al., 2018). During blooms, massive amounts of algal biomass are produced, which impedes light penetration, reduces dissolved oxygen concentrations and water transparency (Paerl and Huisman, 2009; Huisman et al., 2018), and releases secondary metabolites, many of which are hazardous to other organisms (Huang and Zimba, 2019), ultimately resulting in deteriorated water quality. HAB is associated with active vegetation of various taxonomic groups of phototrophic microorganisms, such as dinoflagellates and diatoms. However, in freshwater ecosystems, cyanobacteria, particularly various strains of *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing 1846 (Huang and Zimba, 2019), which are capable of producing more than 240 microcystin variants, typically play a dominant role in bloom formation (Wang et al., 2018).

*Corresponding author. E-mail address: moshchukina@yandex.ru (M.O. Shchukina)

Received: June 29, 2026;
Accepted after revised: July 28, 2026;
Available online: August 28, 2026

© Author(s) 2026. This work is distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

The increasing frequency and intensity of cyanobacterial blooms are often linked to climate change, manifesting as rising temperatures and CO_2 levels (Visser et al., 2016), as well as to increasing anthropogenic pressure that drives eutrophication (Paerl and Huisman, 2009; Huisman et al., 2018). Reducing nutrient inputs to water bodies, particularly phosphorus compounds, is considered the most effective strategy for mitigating HAB occurrence. However, such a measure requires substantial multinational efforts, and the results may take decades to materialize (Jeppesen et al., 2005; Huisman et al., 2018).

Various physical and chemical methods are available for combating cyanobacterial blooms, including dredging, water column mixing, enhanced aeration, ultrasonic treatment, and the application of algaecides, coagulants, and flocculants, among others (Kibuye et al., 2021a,b). However, all these approaches have substantial limitations, such as the risk of secondary pollution, short-lived positive effects, increased cyanotoxin production, adverse effects on non-target organisms, high economic costs, and infeasibility for widespread use, particularly at large scales (Huisman et al., 2018; Kibuye et al., 2021a,b).

Biological control of cyanobacterial blooms is considered the most promising, cost-effective, and environmentally friendly approach (Hwang et al., 2024). A wide range of organisms can be employed as biocontrol agents, including viruses (Pollard and Young, 2010), bacteria (Reim et al., 1974), protists (Dryden and Wright, 1987; Jiang et al., 2025), fungi (Zeng et al., 2020), zooplankton (Zhou et al., 2020), fish (Xie and Liu, 2001), and aquatic macrophytes (Zuo et al., 2014). Nevertheless, existing approaches to biological control face notable constraints. For instance, the introduction of macrophytes may exacerbate eutrophication (Dhote, 2007) and alter community structure (Nezbrytska et al., 2022). The use of viruses, bacteria, fungi, zooplankton, and fish for HAB management can also prove inefficient, although the underlying reasons differ among these biocontrol agent groups (Pal et al., 2020; Kang et al., 2024). In addition to producing growth inhibitors that suppress biomass development, viruses, bacteria, and fungi affect cyanobacteria through cell lysis, a process often accompanied by the release of secondary metabolites into the environment. Cyanobacteria rapidly acquire resistance to cyanophages, and the narrow host specificity of viruses substantially restricts their practical application (Higazi et al., 2025). The modes of action of bacteria and fungi against cyanobacteria remain poorly understood (Kang et al., 2024); however, their effects are considered to be predominantly indirect and are mediated by the secretion of various metabolites that may suppress not only cyanobacteria but also other organisms. Zooplankton and fish, in turn, face difficulties in consuming colonial forms and are often susceptible to cyanotoxins (Ernst et al., 2006; Kâ et al., 2012; Moustaka-Gouni and Sommer, 2020; Xu et al., 2023b). Furthermore, zooplankton grazing on cyanobacteria can lead to cell rupture, releasing secondary metabolites into the water column and facilitating their transfer to higher trophic levels (Kibuye et al., 2021b).

Among biocontrol agents, heterotrophic and mixotrophic protists are of particular interest. As key components of the microbial food web in freshwater ecosystems (Sherr and Sherr, 2016), they possess several functional advantages. As primary consumers of cyanobacteria (Dryden and Wright, 1987; Tarbe et al., 2011; Kosiba et al., 2019), they can exert topdown control without inducing major trophic shifts in the water body (Xu et al., 2023a). Given their important role as phytoplankton grazers (Dryden and Wright, 1987; Sherr and Sherr, 2016), high growth rates, ability to feed selectively, resistance to harmful secondary metabolites, and rapid response to environmental fluctuations (Payne, 2013), protists may be regarded as promising, yet still insufficiently studied agents for the biocontrol of harmful algal blooms (Shchukina et al., 2025).

Despite the considerable body of research on cyanobacterial bloom control using protists, data on the specific role of flagellates and ciliates remain fragmented and scattered. The majority of studies in this area summarize the mechanisms of HAB control and the factors influencing the application of various approaches (Kibuye et al., 2021a,b; Hwang et al., 2024). Several reviews have examined biological HAB control using different groups of aquatic organisms (Sun et al., 2018; Pal et al., 2020). However, the potential of flagellates and ciliates as biocontrol agents is only briefly addressed in these reviews and lacks a systematic synthesis.

This study is dedicated to systematizing and analysing published data, along with our own findings, on the biotic interactions between flagellates, ciliates, and cyanobacteria, with the aim of establishing a foundation for developing HAB control strategies. On the basis of this analysis, we summarize the advantages and limitations of using these protists and propose a conceptual framework for integrated cyanobacterial bloom management that employs heterotrophic and mixotrophic eukaryotic unicells. We further suggest that such a technology could incorporate machine learning methods, which would enable, among other things, the prediction of bloom onset timing and the optimization of biocontrol agent inoculation parameters.

2. Application of flagellates and ciliates for HAB control

2.1. The main mechanisms by which unicellular eukaryotic predators act on cyanobacteria

For the effective application of flagellates and ciliates as biocontrol agents, understanding the mechanisms of predator–prey interactions, including feeding modes, prey selectivity, and potential behavioral shifts within a community context, is essential. To date, very few studies have examined the feeding ecology of potential “biocontrollers” in aquatic ecosystems, with examples including the flagellate *Collodictyon triciliatum* (Nishibe et al., 2002) and the ciliate *Nassula aurea* (Canter et al., 1990). Such investigations are likely key to identifying the most effective protist agents for HAB

biocontrol. It is also important to consider cases where a predator may successfully consume various cyanobacterial strains and exhibit toxin resistance in laboratory experiments but alter its feeding strategy when engaging in antagonistic or competitive interactions with other biocontrol agents (Table 1) (Kosiba et al., 2019; Kosiba et al., 2022). Our analysis of the literature indicates that the impact of flagellates and ciliates on cyanobacteria occurs through several mechanisms. This includes direct grazing on individual cells (Chen et al., 2024), which may be selective toward particular strains or morphotypes (Takamura and Yasuno, 1983), as well as browsing on filamentous colonies (PajdakStós et al., 2001; Fiałkowska and PajdakStós, 2002; Xu et al., 2023a).

Protists employ diverse mechanisms for food capture and ingestion, including phagocytosis (encompassing both active prey seeking and filter feeding) and myzocytosis. In ciliates, prey is typically captured via a specialized oral apparatus, the cytostome, whereas many flagellates lack a cytostome and ingest food through a ventral groove (Leander, 2020), or the site of phagocytosis is not localized to a specific region of the cell. The feeding mechanism not only determines the mode of prey consumption but also influences associated secondary effects. For instance, filter feeding enables the capture of suspended cells from the water column but precludes the predator from affecting large colonies or filaments. Phagocytosis, which involves the engulfment of whole cells, is more versatile; however, it requires that the prey be comparable in size to the predator's cell (although exceptions are known; see Tikhonenkov et al., 2022). Myzocytosis, in contrast, allows the predator to suck out the contents of a prey cell without ingesting it entirely; however, this mechanism necessitates close physical contact with the prey. It is well established that a single protist species may employ multiple feeding strategies. For example, some ciliates can switch from filter feeding to "browsing" on the surface of cyanobacterial colonies, thereby pinching off individual cells from large aggregates (Xu et al., 2023a). This behavioral flexibility enables them to attack previously inaccessible cyanobacterial morphotypes.

The influence of predator-derived secondary metabolites on cyanobacterial cells remains poorly understood. Ciliates are known to secrete a variety of biologically active compounds, many of which are toxic to other organisms (Buonanno et al., 2020) and, in the context of cyanobacteria, can trigger the enhancement of their defensive mechanisms (Pajdak-Stós et al., 2001; Kosiba et al., 2019). Increased antioxidant enzyme activity has also been documented in some toxic strains (Combes et al., 2013). Such responses may reduce grazing efficiency and increase cyanobacterial resistance to predator pressure. The capacity of flagellates to produce secondary metabolites has received considerably less attention, although some studies suggest that cyanobacteria can mount defensive responses to the presence of grazing flagellates, as reported by Yang et al. (2009). Nevertheless, it remains unclear whether the observed defensive reactions are solely a consequence of direct physical contact with the predator or are partially attributable to the metabolites it releases. One may hypothesize that, in addition to direct grazing, some protists are capable of modulating the physiological state of cyanobacteria through the release of biologically active compounds, thereby inhibiting growth, altering gene expression, or disrupting cellular metabolism. These mechanisms are well characterized for bacteria (Calvo-Bayo et al., 2025) and fungi (Zeng et al., 2020) but remain virtually unexplored in flagellates and ciliates.

2.2. Limitations and factors affecting the efficacy of cyanobacterial bloom control by flagellates and ciliates

The efficacy of flagellates and ciliates as biocontrol agents is governed by a combination of biotic and abiotic factors, including feeding selectivity, toxin resistance, interspecific interactions with other protists and cyanobacteria, predator–prey density ratios, and environmental conditions. A key limitation is that many protists are poor grazers of colonial cyanobacteria. Even when grazing does occur, it is often selective and dependent on the morphological traits of the prey. For instance, the ciliates *Paramecium* sp. and *Furgasonia blochmanni* are capable of grazing on filamentous and colonial cyanobacteria, yet they are unable to consume large colonial forms (Table 1).

To defend against grazing, cyanobacteria have evolved several protective strategies, including the formation of spherical or irregular colonies and filamentous aggregates, enhanced secretion of secondary metabolites (including large amounts of mucilage), and thickening of cell walls (Fiałkowska and Pajdak-Stós, 2002; Yang and Kong, 2012; Zhong et al., 2025). Selective grazing may exacerbate HABs, as it can alter the genetic structure of cyanobacterial populations by selecting for resistant genotypes, without necessarily reducing the overall biomass of the bloom (Fiałkowska and Pajdak-Stós, 2002; Wang et al., 2024; Huré et al., 2026; Wang et al., 2026b). This effect must be considered when flagellates and ciliates are directly inoculated, as uncontrolled biological agent may also shift the population structure toward the selection of resistant strains. Microcystin production is not necessarily a grazing-induced response (Wilken et al., 2010). Moreover, prolonged exposure of biocontrol agents to cyanobacteria may lead to a shift in species composition toward more adapted and resistant strains of the graizers, as demonstrated in experiments with *Daphnia* (reviewed in Ger et al., 2016).

Cyanobacterial defense responses are largely driven by gradual predation pressure; therefore, one possible solution would be to increase the initial density of the biocontrol agent, allowing it to rapidly consume the bulk of the cyanobacterial biomass (Burkert et al., 2001; Zhang et al., 2009) before colonial forms develop. An alternative approach could involve the application of inhibitors derived from bacteria or fungi (Mohamed et al., 2014; Zhang et al., 2022; Van Le et al., 2022) to suppress the formation of colonial cyanobacterial morphotypes.

Table 1. Documented grazing interactions between protists and cyanobacteria

Protist species	Cyanobacteria species grazed	Nature of grazing	Ability to graze toxic strains	Defensive reaction of cyanobacteria to grazing	Cysts	Study method	Notes	References
FLAGELLATES								
Family Collodictyonidae Brugerolle et al. 2002, emend. Adl et al. 2019								
Collodictyon triciliatum	*M. aeruginosa*	NR	?	–	?	LE RM	Prefers other algal species	Klaveness, 1995; Nishibe et al., 2002; Kobayashi et al., 2013
Diphylleia rotans	*M. aeruginosa*	NR	+	–	–	LE	High grazing rate on toxic strains. Grazing efficiency depends on environmental parameters	Bo-Ra et al., 2006; Mohamed and Al-Shehri, 2013; Shchukina et al., 2025
Class Cryptophyceae Pascher, 1913								
Cryptomonas sp.	*M. aeruginosa*	NR	+	–	+	LE	High predator growth rate on a medium prepared on filtrate of the culture of *M. aeruginosa*	Princiotta et al., 2019
Class Chrysophyceae Pascher, 1914								
Chlorochromonas danica (=*Ochromonas danica*)	*M. aeruginosa*	WP	–		–	LE	–	Cole and Wynne, 1974
*Ochromonas gloeopara**	*M. aeruginosa* *Dolichospermum flos-aquae* (=*Anabaena flos-aquae*)	WP	?	Change in filament length, heterocyst formation	+	LE RM	Grazing efficiency depends on environmental parameters. The population growth of *Anabaena* sp. does not decrease with increasing temperature	Zhang et al., 2020; Wei et al., 2022; Zhong et al., 2025
Ochromonas sp.	*M. aeruginosa* *M. wesenbergii* *Pseudanabaena* sp.	WP	+	Colony formation	+	LE NO	High grazing rate on toxic strains of *Microcystis*. The predator/prey ratio is important. Increased temperature can accelerate grazing	Burkert et al., 2001; Yang et al., 2008; Van Donk et al., 2009; Yang et al., 2009; Wilken et al., 2010; Yang and Kong, 2012; Zhang et al., 2017; Zhang et al., 2021; Liu et al., 2023
Paraphysomonas solis solis	*M. aeruginosa*	WP	+	–	+	LE	High grazing rate on toxic strains	Shchukina et al., 2025
Poteriospumella lacustris	*Microcystis* sp. *Synechocystis* sp.	WP	+	–	+	LE	Efficiently grazes of *Microcystis* across a wide range of environmental parameters: T = 15–35 °C, pH = 6–10	Chen et al., 2024
Poterioochromonas malhamensis (=*Ochromonas malhamensis*)	*M. aeruginosa* *M. viridis* *Synechococcus* sp.	WP	+	–	+	LE	Microcystins can stimulate the growth of the protist, but the flagellate culture is no longer viable. Grazing efficiency depends on environmental parameters	Zhang et al., 1996; Zhang and Watanabe, 2001; Ou et al., 2005; Ma et al., 2018; Yan et al., 2022; Liu et al., 2023
Poterioochromonas sp.	*M. aeruginosa*	WP	+	–	+	LE	Grazing efficiency depends on environmental parameters and the initial predator/prey ratio	Zhang et al., 2008; Zhang et al., 2009; Zhang et al., 2010
Spumella guttula (=*Monas guttula*)	*Microcystis aeruginosa* *M. viridis* *Leptolyngbya tenuis* (=*Phormidium tenue*)	WP	?	–	+	LE	Grazing efficiency depends on environmental parameters	Sugiura et al., 1991; Sugiura et al., 1992; Sugiura et al., 1997; Fujimoto et al., 2007

Protist species	Cyanobacteria species grazed	Nature of grazing	Ability to graze toxic strains	Defensive reaction of cyanobacteria to grazing	Cysts	Study method	Notes	References
CILIATES								
Class Heterotrichea Stein, 1859								
Blepharisma americanum	*M. aeruginosa*	WP	? –	–	+	LE	Reduction in biovolume and cell width of ciliates when feeding on cyanobacteria	Chapman et al., 2019
Condylostomum vorticella	*Microcystis* sp.	LP	?	–	?	NO	Incapable of grazing on filamentous cyanobacteria	Takamura and Yasuno, 1983
Stentor roeselii	*M. aeruginosa*	NR	?		–	LE	Antagonism with the bacterium *Streptomyces neyagawensis*	Kim et al., 2007
Class Oligohymenophorea de Puytorac et al., 1974								
Frontonia leucas	*Oscillatoria prolifica*	NR	?	–	+	RM		Dias and Dagosto, 2006
Paramecium sp.	*Microcystis* sp. *Raphidiopsis raciborskii* (=*Cylindrospermopsis raciborskii*)	LP	?	Formation of long filaments	–	LE	Not capable of grazing on large colonies	Xu et al., 2023a; Wang et al., 2024
Paramecium cf. *caudatum*	*Raphidiopsis raciborskii* (=*Cylindrospermopsis raciborskii*)	WP	+	?	–	LE	The predator/prey ratio is important	Fabbro et al., 2001
Vorticella sp.	*M. aeruginosa*	NR	?	–	+	LE	Low resistance in the presence of toxic strains	Shchukina et al., 2025
Class Nassophorea Small & Lynn 1981								
Furgasonia blochmanni	*Phormidium* sp. *P. autumnale*	WP	?	Increased mucus production and sheath thickening	+	LE RM	The initial predator/prey ratio is important. Cannot graze on large mucous aggregates	Pajdak-Stós et al., 2001; Fiałkowska and Pajdak-Stós, 2002
Nassula sp.	*Planktothrix agardhii*	WP	+	–	+	LE	Growth on the toxic strain of cyanobacteria is slow. Increased secretion of antioxidant enzymes by ciliates	Combes et al., 2013
Nassula aurea	*Aphanizomenon flos-aquae* f. *gracile*	LP	?	–	+	NO	Antagonism with other ciliates. Does not graze on mucous colonies or large filaments	Canter et al., 1990
Nassula ornata	*Oscillatoria agardhii*	NR	?	–	+	LE	Grazing efficiency depends on environmental parameters. Ciliates are capable of actively consuming *O. agardhii*, but in water bodies they are grazed upon by copepods and juvenile fish	Brabrand et al., 1983
Pseudomicrothorax dubius	*Phormidium autumnale* *Phormidium* sp.	WP	?	Formation of large filamentous aggregates, release of polysaccharides. Retraction of trichomes inside the sheaths	+	LE RM	Cannot graze on large mucous aggregates	Fiałkowska and Pajdak-Stós, 1997; Pajdak-Stós et al., 2001; Fyda et al., 2009

Protist species	Cyanobacteria species grazed	Nature of grazing	Ability to graze toxic strains	Defensive reaction of cyanobacteria to grazing	Cysts	Study method	Notes	References
Class Spirotrichea Bütschli 1889								
Tetmemena pustulata	*M. aeruginosa*	NR	?	Colony formation	+	LE	The ambiguous nature of grazing, with rises and falls in the numbers of both predators and *M. aeruginosa*	Shchukina et al., 2025
Experiments with ciliate communities								
Spirostomum minus *Euplotes aediculatus* *Strobilidium* sp. *Vorticella* sp. *Paramecium tetraurelia*	*Aphanizomenon flos-aquae*	WP	?	–	– – + + –	LE	The initial predator-prey ratio is important. Interactions vary among different ciliate species	Kosiba et al., 2022
Spirostomum sp. *Paramecium aurelia*-complex *Euplotes patella* *Strobilidium* sp.	*Planktothrix agardhii* *M. aeruginosa*	NR	+	–	– – – +	LE	Competition between ciliates; *Aphanizomenon flos-aquae* is not grazed	Kosiba et al., 2019

Note:

Nature of grazing: WP – wide prey spectrum; LP – limited prey spectrum; NR – equivocal results.

Study method: LE – laboratory experiments with two strains (predator/prey, non-axenic cultures); RM – research in microcosms, mesocosms, or ponds; NO – natural observations.

* – The taxonomic and nomenclatural status require clarification.

Other designations: (+) capable of grazing/resistant; (–) not confirmed; (?) insufficient data.

Many of the studies reviewed here indicate that flagellates exhibit greater resistance to toxic cyanobacterial strains than ciliates (see Table 1). However, the presence or absence of toxins does not always unequivocally determine the efficacy of grazing. In our laboratory experiments, we observed slower grazing on non-toxic cyanobacterial cultures, which is consistent with several previous reports (Bo-Ra et al., 2006; Wilken et al., 2010; Shchukina et al., 2025). Although the production of secondary metabolites entails substantial energy and resource costs (Pančić and Kiørboe, 2018), some studies have reported higher growth rates in toxic strains compared to low-toxic or non-toxic cyanobacterial cultures (Suominen et al., 2017; Brown et al., 2025). Conversely, other research has shown the opposite pattern, with non-toxin-producing strains exhibiting higher cell division rates, particularly under the influence of abiotic or biotic factors (Kardinaal et al., 2007; Van de Waal et al., 2011). Growth retardation resulting from environmental constraints may, in turn, enable singlecelled predators to more rapidly suppress biomass increase and counteract the effects of alternative prey defense mechanisms. Furthermore, different cyanobacterial strains can produce remarkably diverse metabolites (Yancey et al., 2024; Huré et al., 2026), which may constrain the broad-scale applicability of any single clone or species of predatory protist as a biocontrol agent.

Despite ample evidence of the ability of protists to degrade secondary metabolites of cyanobacteria, this issue remains largely unexplored. Using *Ochromonas gloeopara* as a model, possible mechanisms of microcystin degradation have been proposed based on transcriptomic analysis (Zhang et al., 2018). This process is thought to involve lysosomal enzymes, reactive oxygen species generated in vacuoles during prey digestion, as well as glutathione and glutathione-S-transferases. Microcystin biodegradation has been studied in more detail in bacteria (Nybom, 2013). The proposed mechanism comprises three stages: cleavage of the cyclic structure, hydrolysis of the linear molecule to a tetrapeptide, and subsequent breakdown into smaller peptides and amino acids. Various studies confirm that microcystin biodegradation does not produce toxic byproducts; however, the fate of microcystin derivatives remains poorly understood. Decarboxylation and demethylation have been suggested as alternative biodegradation pathways, although this aspect also remains unresolved (Nybom, 2013).

Some potential biocontrol agents are capable not only of grazing on cyanobacteria but also of utilizing their metabolic products for growth. Examples include certain strains of *Poterioochromonas malhamensis* (Ou et al., 2005) and *Cryptomonas* sp. (Princiotta et al., 2019). These predator cultures not only survived in the presence of toxic cyanobacteria or their secondary metabolites but also exhibited rapid growth, although they subsequently lost viability. Such biocontrol agents may be applicable for managing short-term HAB outbreaks. The rapid growth of these protists, followed by biomass die-off, could potentially exert a lesser impact on the trophic structure of the water body when they are employed in biotechnological applications.

The efficacy of grazing can be substantially influenced by the nature of interspecific interactions between predator and prey, as well as by interactions among different biocontrol agents themselves. A pertinent example is the complex relationship between the ciliate *Vorticella* sp. and filamentous cyanobacteria, which can even assume a mutualistic character. Specifically, *Vorticella* sp. utilizes the filaments of *Anabaena* sp. both as a substrate and as an additional source of nutrients (Kerr, 1983; Pratt and Rosen, 1983; Canter et al., 1990; Canter et al., 1992). Furthermore, water currents generated by the ciliary action of these ciliates enhance nutrient delivery to the surface of cyanobacterial filaments (Pratt and Rosen, 1983), while the attached vorticellids themselves may serve as an additional protective barrier against other predatory ciliates (Canter et al., 1990). Interactions between biocontrol agents and their prey, as well as between predators and other non-target hydrobionts, remain extremely poorly understood. Some studies have examined the interactions of multiple potential biocontrol agents in the management of HABs (e.g., Kosiba et al., 2019; 2022). However, such observations are typically ancillary and rarely constitute the primary focus of research. Consequently, the available data do not yet permit reliable predictions regarding the compatibility of different protists for controlling cyanobacterial blooms.

The initial predator-to-prey cell ratio is a critical determinant of biocontrol efficacy. When predator density is insufficient, one can at best expect low growth rates and weak grazing on cyanobacteria, as demonstrated in an experiment with *Paramecium* cf. *caudatum* (Fabbro et al., 2001). Under such conditions, the protist may switch to more readily available food sources, as observed for one strain of *Ochromonas* sp. (Burkert et al., 2001). It is also conceivable that cyanobacteria may suppress predator development under these circumstances; however, the precise mechanisms underlying such suppression, whether mediated by secondary metabolites, elevated pH, oxygen depletion, or other factors, require further investigation (Burkert et al., 2001). Conversely, the use of an excessively dense protist culture may also have negative consequences, as shown in an experiment with the ciliate *Furgasonia blochmanni* (Fiałkowska and Pajdak-Stós, 2002), where increased protist density triggered an enhanced defensive response in cyanobacteria, manifested by increased mucilage production and cell wall thickening.

In addition to biotic interactions, the efficacy of protists as biocontrol agents is influenced by environmental parameters. In our view, careful consideration of these parameters is essential, as it defines the operational range and optimal conditions for applying a given biocontrol agent. The growth rates and grazing efficiencies of flagellates have been shown in numerous experiments to depend on temperature, pH, nutrient concentrations (N and P), light intensity, and other factors (Ma et al., 2018; Wei et al., 2022). Some protists, although tolerant to toxic cyanobacterial strains, can only be effective within a narrow temperature range, such as 20°C for *Paraphysomonas solis* (Shchukina et al., 2025) and certain strains of *Ochromonas* sp. (Burkert et

al., 2001). However, this does not preclude their potential utility. The temperatures most favorable for cyanobacterial growth and proliferation exceed 25°C (Paerl and Huisman, 2009; Visser et al., 2016), whereas peak microcystin production may occur at lower temperatures, around 18–20°C (Peng et al., 2018). The results from our own experiments indicate that co-cultivation of *P. solis* and *M. aeruginosa* at 20°C led to a marked reduction in intracellular microcystin concentrations. Moreover, at this temperature, *P. solis* efficiently grazed on both toxic and non-toxic strains of *M. aeruginosa* across three pH levels (5, 7, and 9), with complete consumption of cyanobacteria occurring as early as day 2 of the experiment under slightly acidic conditions. In our preliminary experiments with another cyanobacterial grazer, *Poterioochromonas malhamensis*, which were conducted at 25°C under various light intensities (0, 20, 40, 60, and 100 μmol photons m^{-2} s^{-1}). One-way ANOVA confirmed a significant effect of light intensity on both grazing rate and microcystin degradation rate ($p < 0.001$ for both). According to Tukey's HSD post-hoc test, maximum values for both parameters were recorded at 40 μmol photons m^{-2} s^{-1}. At this light level, the grazing rate was significantly higher than in darkness ($p < 0.05$) and at 20 μmol photons m^{-2} s^{-1} ($p < 0.001$), while the microcystin degradation rate was significantly higher than in the absence of light ($p < 0.001$). Although both parameters were slightly elevated at 40 μmol photons m^{-2} s^{-1} compared to 60 and 100 μmol photons m^{-2} s^{-1}, these differences were not statistically significant ($p > 0.05$).

Thus, although biological approaches to cyanobacterial bloom control involving flagellates and ciliates have certain drawbacks and limitations, some of these challenges can be addressed through careful selection of appropriate biocontrol agents. While a single "universal" protist species effective across a wide range of temperatures is lacking, this limitation can be compensated by selecting a clone optimally suited to the thermal regime of a given water body or by constructing a consortium of predatory species adapted to diverse abiotic and biotic conditions.

2.3. Evaluation of promising biocontrol agents

Numerous studies have been conducted worldwide to evaluate the potential of using flagellates and ciliates for cyanobacterial bloom management (Table 1). The majority of these publications report the results of laboratory experiments, with only a handful of studies focusing on natural community analyses or on the application of biocontrol in microcosms and mesocosms. A review of the literature indicates that flagellates and ciliates not only exhibit tolerance to cyanobacteria but also demonstrate the ability to actively graze on various cyanobacterial morphotypes and degrade secondary metabolites. The efficacy of these protists is highly variable and is governed by multiple factors, including the structural organization of cyanobacterial populations (predominantly unicellular versus colonial), the predator-to-prey cell density ratio, hydrophysical and hydrochemical environmental conditions, and interspecific interactions both among biocontrol agents themselves and between agents and their prey.

Our analysis of the compiled data (Table 1) indicates that mixotrophic flagellates of the genera *Ochromonas* and *Poterioochromonas* (family Chrysophyceae) are the most promising candidates for the biocontrol of cyanobacteria, particularly *Microcystis* spp. Their broad strain diversity, ability to form cysts and degrade toxins, and active grazing on cyanobacteria render them the most versatile biocontrol agents for HAB management. Another chrysomonad, *Poteriospumella lacustris*, has also been shown experimentally to actively graze on cyanobacterial cells, including toxic strains, across a wide range of environmental conditions. However, the fact that only a single study (Chen et al., 2024) is currently available precludes a comprehensive assessment of the potential of this predator.

Flagellates and ciliates have been shown to be capable of grazing on filamentous cyanobacteria; however, ciliates – particularly some species of the genus *Nassula* – are more effective in this regard (Table 1). Nevertheless, even these ciliates cannot ingest overly large filaments. It is reasonable to assume that mechanical disruption of cyanobacterial filaments would render the cells more accessible to grazers.

On the basis of our analysis of the available literature, the flagellates *Collodictyon* sp., *Diphylleia rotans*, *Cryptomonas* sp., and the ciliates *Stentor roeselii*, *Frontonia leucas*, *Vorticella* sp., *Nassula ornata*, and *Tetmemena pustulata* appear to be less promising as biocontrol agents; however, this assessment remains preliminary. In this context, the conflicting results obtained for *Vorticella* sp. (Kosiba et al., 2022; Shchukina et al., 2025) and *Collodictyon* sp. (Klaveness, 1995; Nishibe et al., 2002; Kobayashi et al., 2013) are particularly telling. Although these protists are capable of grazing on cyanobacteria, they exhibit poor viability in the presence of toxic strains, prefer other algae as food sources, engage in mutualistic relationships with their prey, or compete with other predators. Similar inconsistencies have been reported for the flagellate *Diphylleia rotans* and the ciliate *Tetmemena pustulata* (Table 1). A more robust evaluation of the tolerance and efficacy of such organisms as cyanobacterial bloom biocontrol agents will require further experimental and field-based investigations.

3. Elements of cyanobacterial bloom control technologies

3.1. Combined approaches to cyanobacterial bloom control

The use of combined approaches incorporating various physical, chemical, and biological methods can circumvent the limitations and drawbacks of single-approach cyanobacterial bloom control strategies.

3.1.1. Physico-biological control strategy

Combining physical and biological treatments against cyanobacteria has yielded positive results under laboratory conditions. For example, ultra-

sound treatment promotes the disruption of colonial *Microcystis* morphotypes, thereby enabling flagellates of the genus *Ochromonas* to effectively graze on cyanobacterial cells that were previously inaccessible within colonies (Zhang et al., 2021). The use of ultrasound alone, without the subsequent application of protists, is not advisable, as high ultrasound frequencies carry the risk of cell damage (including to non-target organisms) and the release of toxic metabolites into the environment. The drawbacks of this approach also include its high cost.

3.1.2. Chemico-biological control strategy

Combinations of chemical and biological methods also appear promising. For example, laboratory experiments have shown that octanoic acid, which has an inhibitory effect on *Microcystis* sp., accelerates the grazing of cyanobacteria by the chrysomonad *Poterioochromonas malhamensis* (Yan et al., 2024). Another option for integrating chemical and biological approaches is the use of flocculation – the aggregation of algae into larger particles (flocs) for rapid sedimentation, in combination with a protist community. Flocculation of *M. aeruginosa* typically employs various types of clays (Pan et al., 2006), bentonite and kaolinite (Verspagen et al., 2006), lake sediments (Pan et al., 2006; Zou et al., 2006), or biodegradable chitosan (Zou et al., 2006). Although flocculation is considered an inexpensive, safe, and environmentally friendly method for HAB control, it has significant drawbacks, including the risk of reblooming, increased toxin release, bottom siltation, and difficulties in determining the appropriate dosage. Furthermore, flocculation is effective only in deep water bodies, and repeated applications may be required for the complete removal of cyanobacterial biomass (Peng et al., 2019; Lürling et al., 2020). It is conceivable that combining flocculation with a protist consortium could increase the efficacy of this approach. In a related study, Lee et al. (2024) immobilized bacteria on the surface of montmorillonite clay using calcium or manganese cations as bridging agents between negatively charged clay and bacterial cells. By analogy, the potential of a predatory protist community in combination with flocculation may also be considerable; however, this assumption requires dedicated investigation.

3.1.3. Combining protist species as biocontrol agents

In the context of combining various HAB control strategies, the potential joint application of flagellates and ciliates with other organisms warrants consideration. For example, bacteria such as *Bacillus* sp., *Brevibacillus* sp., *Leuconostoc* sp., *Paucibacter* sp., *Streptomyces lushanensis*, inhibit cyanobacterial growth by indirectly affecting these cells through the secretion of antibiotics, biosurfactants, amino acids, alkaloids, or other enzymes (Reim et al., 1974; Zhang et al., 2022; Van Le et al., 2022). Allelochemicals produced by macrophytes, including phenolic compounds, fatty acids, terpenoids, and alkaloids, disrupt the photosynthetic and enzymatic systems in cyanobacteria and compromise cell membrane integrity (e.g. Wu et al., 2015). It is plausible that the combined action of multiple biocontrol agents may suppress cyanobacterial growth more rapidly than the application of individual groups of organisms alone. When assembling potential consortia, including those comprising multiple protist species, it is important to consider the absence of pronounced antagonistic interactions among biocontrol agents, the likelihood of predation, similarity in environmental requirements, and the potential for mutualistic relationships with the prey. However, the validity and practical relevance of these criteria require further experimental validation.

3.2. Practical aspects of biocontrol agent inoculation

Direct inoculation of both individual protist species and species consortia for cyanobacterial control has been applied primarily in laboratory experiments (see Table 1), with a number of studies also conducted in mesocosms (see Table 1) and artificial reservoirs (Kobayashi et al., 2013). Direct predator inoculation for HAB management in a water body requires substantial biomass, which must be produced in advance. Moreover, the feeding selectivity of different protists favours the use of species consortia, as a truly universal biocontrol agent does not appear to exist. The use of protist cysts appears to be the optimal solution for scaling up biocontrol technologies and facilitating logistics, since maintaining live cultures locally is costly, whereas encysted forms can be stored for years. Most protists with potential for HAB biocontrol and cyanotoxin degradation possess dormant stages, which could greatly simplify their cultivation, storage, and application for cyanobacterial bloom management.

Natural populations of cyanobacteria, such as *Microcystis*, consist of a mixture of numerous strains (Kurmayer et al., 2002); therefore, a promising approach might be the creation of an artificial protist consortium comprising several species that target different cyanobacterial morphotypes and are tolerant of a range of environmental conditions. Such a strategy should account for interspecific interactions between the selected predator species and the dominant plankton community in the target water body. For instance, many ciliates secrete toxic secondary metabolites and exhibit antagonistic behavior toward other predators. These effects are less studied in flagellates. Given widespread distribution and high abundance of flagellates in aquatic ecosystems, it is reasonable to assume that even in the presence of antagonistic interactions, artificial increasing of the populations of naturally occurring cyanobacterial grazers in a given water body would yield positive outcomes. This is a crucial consideration, as one of the risks associated with biological control is the introduction of invasive species. Furthermore, the use of a protist consortium could also prevent a shift in the cyanobacterial population toward dominance by a single morphotype.

It is important to note that uncontrolled biomanipulation carries serious ecological risks, which are not confined to the possible introduction of invasive species. The introduction of protists into an ecosystem and artificial maintenance of their high densities could substantially alter food web structure, interspecific interactions, and community composition. Despite the recognized importance of flagellates and ciliates in microbial loop functioning (Sherr and Sherr, 2016), current knowledge on the consequences of artificially regulating protist populations in aquatic ecosystems remains insufficient for reliable prediction and assessment of potential ecological outcomes. Accordingly, any biocontrol strategies should be preceded by a thorough evaluation of potential longterm ecological effects and accompanied by subsequent ecosystem monitoring.

Direct inoculation may be most appropriate for small, enclosed, and/or artificial water bodies. In large aquatic ecosystems, accurate estimation of the required biocontrol agent biomass is challenging due to the patchy distribution of cyanobacteria and high associated uncertainty. Errors in determining the predator–prey ratio are critical: underestimating predator density will fail to halt the bloom, whereas overestimation can trigger enhanced cyanobacterial defense responses, cause predators to switch to non-target prey, lead to mass mortality of the biocontrol agent itself, and result in secondary pollution of the water body with decomposition products.

3.3. Floating modular bioremediation stations

The design of mobile, autonomous modular stations represents a promising direction for HAB management in aquatic ecosystems. This approach combines the mechanical collection of cyanobacterial biomass using skimmer-like units with intensive protist-based treatment localized within a bioreactor. Unlike the direct introduction of biocontrol agents into open water, such systems isolate the working biomass within the reactor, while also allowing for the on-site cultivation of the biocontrol agents themselves (for example, the installations described in the works Kusterer et al., 2008; Zhu et al., 2019; Meyer, 2026). The incorporation of additional modules for the mechanical disruption of colonies or filamentous aggregates within the bioreactor would render the prey more accessible and accelerate cyanobacterial consumption. In our view, it is advisable to use consortia of flagellates and ciliates, selected for optimal adaptation to the environmental parameters of the target ecosystem and for resistance to cyanotoxins, rather than monocultures, as biocontrol agents. Such floating installations could potentially enable controlled HAB bioregulation without the risks of invasive species introduction or the sedimentation of decomposition products from dead biocontrol agent biomass and their metabolic exudates. Various autonomous systems for water pollution control already exist (Sheng et al., 2013; Cui et al., 2018), as do bioreactors for cultivating microorganisms outside laboratory settings (Zhu et al., 2019; Meyer, 2026). An example of a floating reactor is the modified system developed by Cui et al. (2018), in which the combined use of macrophytes and bacteria on a zeolite–limestone substrate enables the removal of total nitrogen, total phosphorus, and ammonium nitrogen (NH_4^+-N). Integrating such systems with protist consortia could address the challenges of HABs and concurrent secondary metabolite degradation, while minimizing ecological disruption by confining the treatment process within the installation. Such systems could be deployed in both large and small water bodies, potentially with automated operation. However, a key challenge remains the removal of dead predator biomass and incompletely digested cyanobacterial remains from bioreactors.

3.4. Machine learning for cyanobacterial bloom forecasting

Machine learning methods, such as CatBoost and XGBoost, can be employed to determine the optimal timing of inoculation and to select the most suitable protist species. These algorithms, which belong to the family of gradient boosting on decision trees, are capable of addressing both classification tasks (e.g., species selection) and regression problems (e.g., predicting inoculation timing or biocontrol efficacy). The model is trained on historical datasets that include water temperature, nutrient concentrations, cyanobacterial density and morphology, and the observed biocontrol outcomes. On the basis of the identified nonlinear relationships, CatBoost or XGBoost can classify the current state and recommend an optimal operational strategy (Salamah et al., 2026). The advantages of these methods include high predictive accuracy, robustness against overfitting, and built-in handling of missing values and categorical features, particularly in CatBoost, making them well-suited for real-time decision-making in HAB management (Wu et al., 2025; Wang et al., 2026a).

In addition to gradient boosting, Random Forest methods can also be applied to predict the optimal inoculation timing and to select suitable protist species for cyanobacterial bloom control. This ensemble method constructs decision trees in parallel and averages their predictions, which ensures high robustness to noise and facilitates straightforward interpretation of the results (Zhang et al., 2026; Xu et al., 2026). For more complex scenarios that require capturing temporal dependencies in long-term observational datasets, recurrent neural networks, such as LSTM and GRU, are promising, as they are capable of learning from sequential data and uncovering hidden patterns (Recknagel et al., 2025).

However, all of the aforementioned methods require labelled training data, that is, data from previously successful cyanobacterial bloom control scenarios. Reinforcement learning (RL) offers an alternative approach. In this framework, an agent (the model) interacts with the environment (a water body or its simulation) by sequentially selecting control parameters, specifically, the protist species, timing of introduction, and quantity of biocontrol agent inoculum. The model then receives a reward signal that reflects biocontrol performance, such as the reduction in cyanobacterial

biomass or the duration of the control effect. Through trial and error, the agent learns from this feedback and autonomously develops a control strategy that adapts to the current state of the ecosystem without requiring pre-labelled successful decision data (Pyo et al., 2025). This approach is particularly promising under fluctuating environmental conditions, where bloom dynamics may shift unpredictably.

The choice of a specific method depends on the complexity of the task at hand, the volume and quality of available data, as well as the computational resources and operational speed requirements. Tree-based models, such as CatBoost, XGBoost, and Random Forest, are faster to train and require less hyperparameter tuning, as they have relatively few critical parameters, including tree depth, minimum samples per leaf, and learning rate. This simplifies the assessment of feature importance and makes these models well suited for scenarios with limited computational resources (Recknagel et al., 2025; Wu et al., 2025). In contrast, neural network approaches have the potential to achieve higher accuracy when long time series and complex nonlinear interactions are involved; however, they demand greater computational power and careful «architecture selection» and often function as “black boxes”, that is, they are difficult to interpret and explain (Recknagel et al., 2025; Wang et al., 2026a). In practice, it is advisable to test multiple model types, striking a balance between predictive accuracy and resource demands for the specific conditions of a given water body (Wang et al., 2026a).

4. Conceptual scheme of a modular bioremediation station for cyanobacterial bloom control

Below, we present a possible design for a floating modular bioremediation station for HAB control using protists. The system is a vertically oriented floating platform capable of moving toward a HAB hotspot to collect surface cyanobacterial biomass and subsequently purify the water. A schematic representation of the design is shown in Figures 1 and 2. This technology could be deployed in a water body either during an active bloom or at an early stage, immediately after a HAB outbreak has been detected, which, in large water bodies, could be accomplished via drones or satellite imagery. The device is divided into five modules.

The first module is a skimmer–funnel with a lid and adjustable flow capacity. It collects the surface water layer containing cyanobacteria. Biomass collection can be achieved through various means: adjusting the skimmer immersion depth, deploying guide booms or hoses, or using pumps to generate localized suction and water flow. The selection of the appropriate mechanism depends on site-specific characteristics, such as water depth, surface area, and the presence of currents.

The second module is a compartment for the disruption of colonial cyanobacterial morphotypes. One of the limitations of using flagellates and ciliates is their inability to break down large colonies. This module is designed to overcome that constraint. The chamber

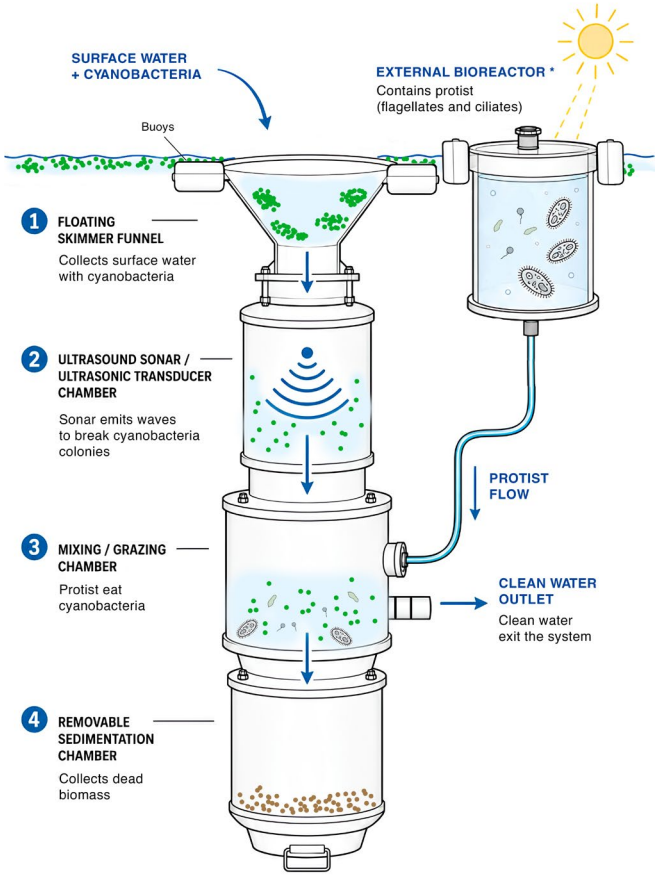


Fig.1. Conceptual design of a floating modular bioremediation station for HAB management. * – The diagram shows a single bioreactor; multiple independent bioreactor-fermenters may be included for the cultivation of several protist species or strains.

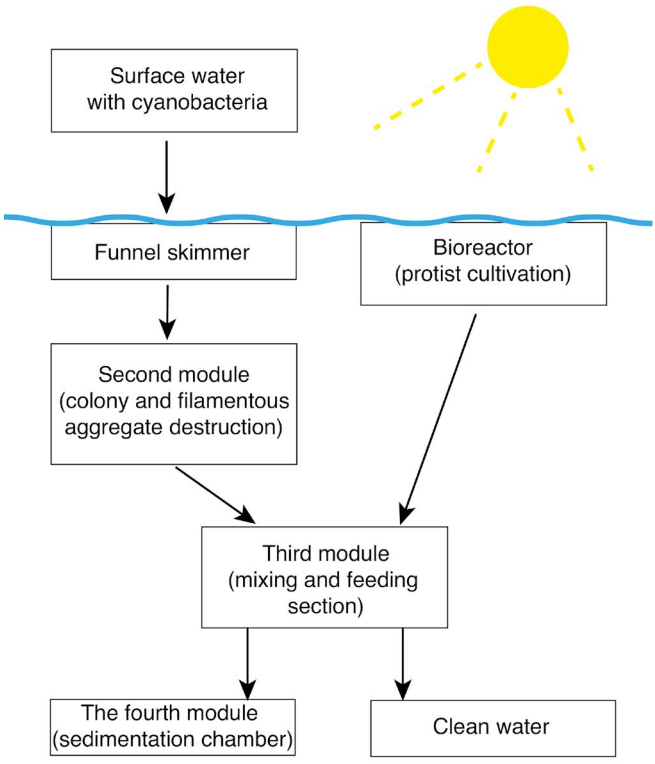


Fig.2. Functional schematic of a floating bioreactor for HAB management.

employs a low-frequency ultrasonic emitter (sonar) to disrupt the colonies without causing complete cell lysis.

The third module is a mixing chamber, where ultrasonically treated cyanobacteria and protists from the external bioreactor are introduced. This is where grazing of the cells takes place. The purified water is returned to the water body through a filtration system that minimizes the release of undigested residues and protists themselves.

The fourth module is a removable sedimentation chamber for settling dead biomass and cyanobacterial debris. This module reduces the risk of re-contaminating the water body and eutrophication. The chamber requires cleaning once per season or as needed, since large culture volumes are not necessary for grazing. The sediment could potentially be reused as fertilizer or biofuel.

The fifth module is an external bioreactor-fermenter, which is used for the cultivation and maintenance of various biocontrol agent cultures. It is connected to the mixing chamber via a tube. The bioreactor may be positioned near the water surface to take advantage of natural light, which is beneficial for cultivating light-dependent flagellates, but it can also be equipped with artificial lighting and placed at any suitable location.

Water entering the skimmer passes through a system of optical and fluorescence sensors that record the spectral characteristics of cells and aggregates. The resulting data are processed using machine learning algorithms that classify cyanobacteria by taxonomic group, estimate their concentration, and determine their morphotype (colonial, filamentous, or unicellular) (Meirkhanova et al., 2024; Fernández-Manteca et al., 2025). Real-time analysis enables rapid selection, from the bioreactor, of the protist culture most effective against the identified cyanobacterial type under prevailing environmental conditions. However, the portability of such technologies is currently limited, and collecting a standard sample followed by rapid analysis using spectrophotometric methods appears to be a more realistic approach. On the basis of the data obtained, the most effective protist culture is delivered from the corresponding bioreactor into the mixing chamber. This approach requires multiple independent bioreactors, each containing a distinct biocontrol agent strain. Although cyanobacteria are expected to be grazed by protists without cell wall disruption, the water entering the skimmer may still contain cyanotoxins. One potential approach to addressing this issue could involve the use of biofilms harboring bacteria capable of releasing enzymes into the surrounding medium to degrade extracellular microcystin (Kumar et al., 2019; Morón-López et al., 2020). The device could be powered by solar panels or batteries, enabling automated operation. A system of buoys keeps the device afloat, and the addition of motors would allow it to be moved across the water body.

The described device does not need be vertically oriented, as shown in the diagrams (Figs. 1 and 2). Such a conceptual design would require further engineering refinement and field testing in water bodies. These solutions would be particularly relevant for artificial reservoirs and aquaculture facilities. Their automation, combined with the use of machine learning for bloom analysis and prediction, could maximize the effectiveness of HAB management efforts.

5. Conclusion

Flagellates and ciliates hold significant promise as biocontrol agents against cyanobacterial blooms. Currently, the most promising candidates are mixotrophic flagellates, particularly members of the genera *Ochromonas* and *Poterioochromonas*, which combine resistance to toxic strains with the ability to actively graze on various cyanobacterial morphotypes and degrade secondary metabolites. Among ciliates, representatives of the genus *Nassula* can be regarded as the most effective against HABs caused by filamentous cyanobacteria. However, a more comprehensive evaluation of their potential requires testing for their ability to graze on unicellular and colonial forms, as well as for their resistance to toxic strains.

The efficacy of protist application is governed by a combination of factors, including prey morphology and defense mechanisms, predator physiology and ecology, the initial predator–prey cell ratio, hydrophysical and hydrochemical environmental conditions, and interspecific interactions.

Evaluations of the efficacy of protists for HAB control are currently largely confined to laboratory experiments. Consequently, the use of flagellates and ciliates should be considered a promising approach that nonetheless requires further experimental and field validation. The most promising strategies for HAB management appear to be integrated approaches that combine biological control with physical or chemical methods, together with machine learning–based prediction tools to optimize the timing of interventions.

As one possible solution, we propose a conceptual design for a floating modular bioremediation station that collects surface cyanobacterial biomass, ultrasonically disrupts colonies, enables protists to graze in a mixing chamber, allows sedimentation of debris, and includes a bioreactor-fermenter for biocontrol agent cultivation. The device could potentially operate autonomously, using machine learning–based analysis to select the most appropriate protist species for the prevailing bloom type.

At the same time, key challenges include the search for more versatile and robust biocontrol agents, the study of their ecological interactions, and the scaling up of safe HAB control technologies for natural and artificial aquatic ecosystems through microcosm and mesocosm experiments.

Acknowledgements

This work was supported by the Russian Science Foundation grant no. (grant no. 24-44-00093) https://rscf.ru/project/24-44-00093/. The work of Jiang M.X. and Gong Y.C. was financially supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 32361133561).

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

Bo-Ra K., Shin-ichi N., Baik-Ho K. et al. 2006. Grazing and growth of the heterotrophic flagellate *Diphylleia rotans* on the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. Aquatic Microbial Ecology 45: 163–170. DOI: 10.3354/ame045163

Brabrand Å., Faafeng B.A., Källqvist T. et al. 1983. Biological control of undesirable cyanobacteria in culturally eutrophic lakes. Oecologia 60: 1–5. DOI: 10.1007/BF00379311

Brown S.M., Blaszczak J.R., Shriver R.K. et al. 2025. Growth and anatoxin-a production of *Microcoleus* (Cyanobacteria) strains from streams in California, USA. Harmful Algae 144: 102834. DOI: 10.1016/j.hal.2025.102834

Buonanno F., Catalani E., Cervia D. et al. 2020. Natural Function and Structural Modification of Climacostol, a Ciliate Secondary Metabolite. Microorganisms 8(6): 809. DOI: 10.3390/microorganisms8060809

Burkert U., Hyenstrand P., Drakare S. et al. 2001. Effects of the mixotrophic flagellate *Ochromonas* sp. on colony formation in *Microcystis aeruginosa*. Aquatic Ecology 35: 11–17. DOI: 10.1023/A:1011454313607

Calvo-Bayo I., Bolívar-Galiano F., Romero-Noguera J. 2025. Algicidal Bacteria: A Sustainable Proposal to Control Microalgae in the Conservation and Restoration of Stone Cultural Heritage. Sustainability 17(23): 10610. DOI: 10.3390/su172310610

Canter H.M., Heaney S.I., Lund J.W.G. 1990. The ecological significance of grazing on planktonic populations of cyanobacteria by the ciliate *Nassula*. New Phytologist 114: 247–263. DOI: 10.1111/j.1469-8137.1990.tb00397.x

Canter H.M., Walsby A.E., Kinsman R. et al. 1992. The effect of attached vorticellids on the buoyancy of the colonial cyanobacterium *Anabaena lemmermannii*. British Phycological Journal 27: 65–74. DOI: 10.1080/00071619200650081

Chapman I.J., Franklin D.J., Turner A.D. et al. 2019. Predator-prey interactions between the ciliate *Blepharisma americanum* and toxic (*Microcystis* spp.) and non-toxic (*Chlorella vulgaris*, *Microcystis* sp.) photosynthetic microbes. Aquatic Microbial Ecology 83: 211–224. DOI: 10.3354/ame01913

Chen S., Xie W., Lin X. et al. 2024. Controlling toxic *Microcystis* blooms: The power of a novel microalgal predator *Poteriospumella lacustris* in water safety improvement. Journal of Cleaner Production 441: 141011. DOI: 10.1016/j.jclepro.2024.141011

Cole G.T., Wynne M.J. 1974. Endocytosis of *Microcystis aeruginosa* by *Ochromonas danica*. Journal of Phycology 10(4): 397–410. DOI: 10.1111/j.1529-8817.1974.tb02732.x

Combes A., Dellinger M., Cadel-six S. et al. 2013. Ciliate *Nassula* sp. grazing on a microcystin-producing cyanobacterium (*Planktothrix agardhii*): impact on cell growth and in the microcystin fractions. Aquatic Toxicology 126: 435–441. DOI: 10.1016/j.aquatox.2012.08.018

Cui N., Chen G., Liu Y. et al. 2018. Comparison of two different ecological floating bio-reactors for pollution control in hyper-eutrophic freshwater. Scientific Reports 8(1): 14306. DOI: 10.1038/s41598-018-32151-5

Dhote S. 2007. Role Of Macrophytes In Improving Water Quality Of An Aquatic Eco-system. Journal of Applied Sciences and Environmental Management 11: 133–135.

Dias R., Dagosto M. 2006. Feeding behavior of *Frontonia leucas* (Ehrenberg) (Protozoa, Ciliophora, Hymenostomatida) under different environmental conditions in a lotic system. Revista Brasileira De Zoologia 23(3): 758–763. DOI: 10.1590/S0101-81752006000300021

Dryden R.C., Wright S.J.L. 1987. Predation of cyanobacteria by protozoa. Canadian Journal of Microbiology 33: 471–482. DOI: 10.1139/m87-080

Ernst B., Hoeger S.J., O'Brien E. et al. 2006. Oral toxicity of the microcystin-containing cyanobacterium *Planktothrix rubescens* in European whitefish (*Coregonus lavaretus*). Aquatic Toxicology 79: 31–40. DOI: 10.1016/j.aquatox.2006.04.013

Fabbro L., Baker M., Duivenvoorden L. et al. 2001. The effects of the ciliate *Paramecium* cf. *caudatum* Ehrenberg on toxin producing *Cylindrospermopsis* isolated from the Fitzroy River, Australia. Environmental Toxicology 16: 489–497. DOI: 10.1002/tox.10007

Fernández-Manteca M.G., García B.G., Álvarez S.D. et al. 2025. Comprehensive Raman spectroscopy analysis for differentiating toxic cyanobacteria through multichannel 1D-CNNs and SHAP-based explainability. Talanta 292: 127845. DOI: 10.1016/j.talanta.2025.127845

Fiałkowska E., Pajdak-Stós A. 2002. Dependence of Cyanobacteria defense mode on grazer pressure. Aquatic Microbial Ecology 27: 149–157. DOI: 10.3354/ame027149

Fiałkowska E., Pajdak-stós A. 1997. Inducible defence against a ciliate grazer *Pseudomicrothorax dubius*, in two strains of *Phormidium* (cyanobacteria). Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences 264: 937–941. DOI: 10.1098/rspb.1997.0129

Fujimoto N., Ohno N., Tanaka K. et al. 2007. Degradation of the cyanobacterial hepatotoxin microcystin by bacteria isolated from a monoxenic culture of the flagellate *Monas guttula*. Jpn. J. Water Treat. Biol 43: 99–111. DOI: 10.2521/jswtb.43.99

Fyda J., Nosek J., Wiąckowski K. et al. 2009. Effects of grazers' species identity on cyanobacteria in bitrophic and tritrophic food webs. FEMS Microbiology Ecology 68(3): 329–339. DOI: 10.1111/j.1574-6941.2009.00676.x

Ger K.A., Urrutia-Cordero P., Frost P.C. et al. 2016. The interaction between cyanobacteria and zooplankton in a more eutrophic world. Harmful Algae 54: 128–144. DOI: 10.1016/j.hal.2015.12.005

Higazi M., Kolan D., Cattan-Tsaushu E. et al. 2025. Nitrogen availability shapes evolution of phage resistance in cyanobacteria. The ISME Journal 19(1): wraf180. DOI: 10.1093/ismejo/wraf180

Huang I.S., Zimba P.V. 2019. Cyanobacterial bioactive metabolites – A review of their chemistry and biology. Harmful Algae 86: 139–209. DOI: 10.1016/j.hal.2018.11.008

Huisman J., Codd G.A., Paerl H.W. et al. 2018. Cyanobacterial blooms. Nature Reviews Microbiology 16: 471–483. DOI: 10.1038/s41579-018-0040-1

Huré A., Le Meur M., Duval C. et al. 2026. Metabolite diversity of *Microcystis* strains shows tight correspondence to genotype and may contribute to ecotype specificities. Communications Biology 9: 305. DOI: 10.1038/s42003-026-09599-7

Hwang S.-O., Cho I.-H., Kim H.-K. et al. 2024. Toward a brighter future: enhanced sustainable methods for preventing algal blooms and improving water quality. Hydrobiology 3: 100–118. DOI: 10.3390/hydrobiology3020008

Jeppesen E., Søndergaard M., Jensen J.P. et al. 2005. Lake responses to reduced nutrient loading – an analysis of contemporary long-term data from 35 case studies. Freshwater biology 50: 1747–1771. DOI: 10.1111/j.1365-2427.2005.01415.x

Jiang M., Gong Y., Tikhonenkov D. 2025. Feeding of Vampirellid Amoeba (Leptophryidae) on Cyanobacteria. Inland Water Biology 18: 1504–1509. DOI: 10.1134/S1995082925601376

Kâ S., Mendoza-Vera J.M., Bouvy M. et al. 2012. Can tropical freshwater zooplankton graze efficiently on cyanobacteria? Hydrobiologia 679: 119–138. DOI: 10.1007/s10750-011-0860-8

Kang M., Jeong S., Ko S.-R. et al. 2024. Biotechnological approaches for suppressing *Microcystis* blooms: insights and challenges. Applied Microbiology and Biotechnology 108: 466. DOI: 10.1007/s00253-024-13260-w

Kardinaal W.E., Tonk L., Janse I. et al. 2007. Competition for light between toxic and nontoxic strains of the harmful cyanobacterium *Microcystis*. Applied and environmental microbiology 73: 2939–2946. DOI: 10.1128/AEM.02892-06

Kerr S.J. 1983. Colonization of blue-green algae by *Vorticella* (Ciliata: Peritrichida). Transactions of the American Microscopical Society 102(1): 38–47. DOI: 10.2307/3225923

Kibuye F.A., Zamyadi A., Wert E.C. 2021. A critical review on operation and performance of source water control strategies for cyanobacterial blooms: Part I-chemical control methods. Harmful Algae 109: 102099. DOI: 10.1016/j.hal.2021.102099

Kibuye F.A., Zamyadi A., Wert E.C. 2021. A critical review on operation and performance of source water control strategies for cyanobacterial blooms: Part II-mechanical and biological control methods. Harmful Algae 109: 102119. DOI: 10.1016/j.hal.2021.102119

Kim B., Hwang S., Kim Y. et al. 2007. Effects of Biological Control Agents on Nuisance Cyanobacterial and Diatom Blooms in Freshwater Systems. Microbes and Environments 22: 52–58. DOI: 10.1264/jsme2.22.52

Klaveness D. 1995. *Collodictyon triciliatum* H. J. Carter(1865)-- a common but fixation-sensitive algivorous flagellate from the limnopelagial. Nordic journal of freshwater research. Drottningholm 70: 3–11. DOI: 10.1078/1434-4610-00083

Kobayashi Y., Hodoki Y., Ohbayashi K. et al. 2013. Grazing impact on the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* by the heterotrophic flagellate *Collodictyon triciliatum* in an experimental pond. Limnology 14(1): 43–49. DOI: 10.1007/s10201-012-0384-6

Kosiba J., Krztoń W., Koreivienė J. et al. 2022. Interactions between ciliate species and *Aphanizomenon flos-aquae* vary depending on the morphological form and biomass of the diazotrophic cyanobacterium. International Journal of Environmental Research and Public Health 19(22): 15097. DOI: 10.3390/ijerph192215097

Kosiba J., Wilk-Woźniak E., Krztoń W.J.H. 2019. The effect of potentially toxic cyanobacteria on ciliates (Ciliophora). Hydrobiologia 827(1): 325–335. DOI: 10.1007/s10750-018-3783-9

Kumar P., Hegde K., Brar S.K. et al. 2019. Novel fluidized-bed biofilm reactor for concomitant removal of microcystin-LR and organics. Chemical Engineering Journal 359: 99–111. DOI: 10.1016/j.cej.2018.11.119

Kurmayer R., Dittmann E., Fastner J. et al. 2002. Diversity of Microcystin Genes within a Population of the Toxic Cyanobacterium *Microcystis* spp. in Lake Wannsee (Berlin, Germany). Microbial Ecology 43: 107–118. DOI: 10.1007/s00248-001-0039-3

Kusterer A., Krause C., Kaufmann K. et al. 2008. Fully automated single-use stirred-tank bioreactors for parallel microbial cultivations. Bioprocess and Biosystems Engineering 31: 207–215. DOI: 10.1007/s00449-007-0195-z

Leander B.S. 2020. Predatory protists. Current Biology 30: R510-R516. DOI: 10.1016/j.cub.2020.03.052

Lee J.W., Jeong S.-Y., Kim T.G. 2024. Effects of Montmorillonite-Cation-Microorganism Complexes on Photosynthetic Activity, Growth, and Precipitation of *Chlorella vulgaris* and *Microcystis aeruginosa*. Microbiology and Biotechnology Letters 52: 372–382. DOI: 10.48022/mbl.2408.08015

Liu S., Feng W., Tang Y. et al. 2023. Isolation and identification of two mixotrophic flagellates and their feeding on *Microcystis*. International Journal of Science 10(5): 7–15.

Lürling M., Kang L., Mucci M. et al. 2020. Coagulation and precipitation of cyanobacterial blooms. Ecological Engineering 158: 106032. DOI: 10.1016/j.ecoleng.2020.106032

Ma M., Gong Y., Hu Q. 2018. Identification and feeding characteristics of the mixotrophic flagellate *Poterioochromonas malhamensis*, a microalgal predator isolated from outdoor massive *Chlorella* culture. Algal Research 29: 142–153. DOI: 10.1007/s11356-022-18614-3

Meirkhanova A., Marks S., Feja N. et al. 2024. Spectral Algal Fingerprinting and Long Sequencing in Synthetic Algal-Microbial Communities. Cells 13(18): 1552. DOI: 10.3390/cells13181552

Meyer B.L. 2026. Bioreactor Stages. In: Meyer B.L. (Ed.), Designing Farms in Space: Balances for Life Support, Food and Settlement. Springer Nature Switzerland. Cham, pp. 257–280. DOI: 10.1007/978-3-032-04395-5_8

Mohamed Z.A., Al-Shehri A.M. 2013. Grazing on *Microcystis aeruginosa* and degradation of microcystins by the heterotrophic flagellate *Diphylleia rotans*. Ecotoxicology and environmental safety 96: 48–52. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2013.06.015

Mohamed Z.A., Hashem M., Alamri S.A. 2014. Growth inhibition of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* and degradation of its microcystin toxins by the fungus *Trichoderma citrinoviride*. Toxicon 86: 51–58. DOI: 10.1016/j.toxicon.2014.05.008

Morón-López J., Nieto-Reyes L., Molina S. et al. 2020. Exploring microcystin-degrading bacteria thriving on recycled membranes during a cyanobacterial bloom. Science of The Total Environment 736: 139672. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.139672

Moustaka-Gouni M., Sommer U. 2020. Effects of Harmful Blooms of Large-Sized and Colonial Cyanobacteria on Aquatic Food Webs. Water 12 (6): 1587. DOI: 10.3390/w12061587

Nezbrytska I., Usenko O., Konovets I. et al. 2022. Potential Use of Aquatic Vascular Plants to Control Cyanobacterial Blooms: A Review. Water 14(11): 1727. DOI: 10.3390/w14111727

Nishibe Y., Kawabata Z., Nakano S. 2002. Grazing on *Microcystis aeruginosa* by the heterotrophic flagellate *Collodictyon triciliatum* in a hypertrophic pond. Aquatic microbial ecology 29(2): 173–179. DOI: 10.3354/ame029173

Nybom S. 2013. Biodegradation of cyanobacterial toxins. In: Petre M (ed) InTech, Rijeka, pp. 147–170. DOI: 10.5772/55511

Ou D., Song L., Gan N. et al. 2005. Effects of microcystins on and toxin degradation by *Poterioochromonas* sp. Environmental Toxicology: An International Journal 20(3): 373–380. DOI: 10.1002/tox.20114

Paerl H.W., Huisman J. 2009. Climate change: a catalyst for global expansion of harmful cyanobacterial blooms. Environmental microbiology reports 1: 27–37. DOI: 10.1111/j.1758-2229.2008.00004.x

Pajdak-Stós A., Fiałkowska E., Fyda J. 2001. *Phormidium autumnale* (Cyanobacteria) defense against three ciliate grazer species. Aquatic Microbial Ecology 23: 237–244. DOI: 10.3354/AME023237

Pal M., Yesankar P.J., Dwivedi A. et al. 2020. Biotic control of harmful algal blooms (HABs): A brief review. Journal of Environmental Management 268: 110687. DOI: 10.1016/j.jenvman.2020.110687

Pan G., Zhang M.-M., Chen H. et al. 2006. Removal of cyanobacterial blooms in Taihu Lake using local soils. I. Equilibrium and kinetic screening on the flocculation of *Microcystis aeruginosa* using commercially available clays and minerals. Environmental Pollution 141: 195–200. DOI: 10.1016/j.envpol.2005.08.041

Pančić M., Kiørboe T. 2018. Phytoplankton defence mechanisms: traits and trade-offs. Biological Reviews 93:

1269–1303. DOI: 10.1111/brv.12395

Payne R.J. 2013. Seven reasons why protists make useful bioindicators. Acta Protozoologica 52(3): 105–113. DOI: 10.4467/16890027AP.13.0011.1108

Peng G., Martin R.M., Dearth S.P. et al. 2018. Seasonally relevant cool temperatures interact with N chemistry to increase microcystins produced in lab cultures of *Microcystis aeruginosa* NIES-843. Environmental science & technology 52: 4127–4136. DOI: 10.1021/acs.est.7b06532

Peng L., Lei L., Xiao L. et al. 2019. Cyanobacterial removal by a red soil-based flocculant and its effect on zooplankton: an experiment with deep enclosures in a tropical reservoir in China. Environmental Science and Pollution Research 26: 30663–30674. DOI: 10.1007/s11356-018-2572-3

Pollard P.C., Young L.M. 2010. Lake viruses lyse cyanobacteria, *Cylindrospermopsis raciborskii*, enhances filamentous-host dispersal in Australia. Acta Oecologica 36: 114–119. DOI: 10.1016/j.actao.2009.10.007

Pratt J.R., Rosen B.H. 1983. Associations of species of *Vorticella* (Peritrichida) and planktonic algae. Transactions of the American Microscopical Society 102(1): 48–54. DOI: 10.2307/3225924

Princiotta S.D., Hendricks S.P., White D.S. 2019. Production of Cyanotoxins by *Microcystis aeruginosa* Mediates Interactions with the Mixotrophic Flagellate *Cryptomonas*. Toxins 11(4): 223. DOI: 10.3390/toxins11040223

Pyo J., Baek S.-S., Abbas A. et al. 2025. Improving reservoir water quality by optimizing weir operations with reinforcement learning and SWAT. Ecohydrology & Hydrobiology 25: 100679. DOI: 10.1016/j.ecohyd.2025.100679

Recknagel F., Shan K., Adrian R. et al. 2025. Early warning of harmful cyanobacteria blooms based on high frequency in situ monitoring and intelligible machine learning modelling: The case study of Lake Müggelsee (Germany). Water Research 287: 124514. DOI: 10.1016/j.watres.2025.124514

Reim R.L., Shane M.S., Cannon R.E. 1974. The characterization of a *Bacillus* capable of blue-green bactericidal activity. Canadian Journal of Microbiology 20: 981–986. DOI: 10.1139/m74-152

Salamah S.K., Kheimi M., Zounemat-Kermani M. 2026. Integrating ensemble and contrastive learning with explainable AI for modeling eutrophication-driven algal risks. Environmental Monitoring and Assessment 198: 462. DOI: 10.1007/s10661-026-15320-2

Shchukina M.O., Zagumyonnyi D.G., Belyaev A.O. et al. 2025. Isolation of novel clones of predatory protists and their grazing on toxic and non-toxic *Microcystis aeruginosa* Kützing, 1846, a prevalent cyanobacterium linked to harmful algal blooms. Protistology 19: 298–317. DOI: 10.21685/1680-0826-2025-19-4-3

Sheng Y., Qu Y., Ding C. et al. 2013. A combined application of different engineering and biological techniques to remediate a heavily polluted river. Ecological Engineering 57: 1–7. DOI: 10.1016/j.ecoleng.2013.04.004

Sherr E.B., Sherr B.F. 2016. Phagotrophic Protists: Central Roles in Microbial Food Webs. In: Glibert, P.M., Kana, T.M. (Eds.), Aquatic Microbial Ecology and Biogeochemistry: A Dual Perspective. Springer International Publishing, Cham, pp. 3–12. DOI: 10.1007/978-3-319-30259-1_1

Sugiura N., Inamori Y., Ouchiyama T. et al. 1992. Degradation of cyanobacteria, *Microcystis* by microflagellate, *Monas guttula*. Water Science and Technology 26: 2173. DOI: 10.2521/jswtb.43.99

Sugiura N., Inamori Y., Sudo R. et al. 1991. Effects of Physicochemical Factors on Graze and Decomposition of Blue-green alga, *Microcystis aeruginosa* by Mastigophora, *Monas guttula*. Japanese Journal of Water Treatment Biology 27: 111–116. DOI: 10.2521/jswtb.27.111

Sugiura N., Nishimura O., Inamori Y. et al. 1997. Grazing characteristics of musty-odor-compound-producing *Phormidium tenue* by a microflagellate, *Monas guttula*. Water Research 31: 2792–2796. DOI: 10.1016/S0043-1354(97)00115-2

Sun R., Sun P., Zhang J. et al. 2018. Microorganisms-based methods for harmful algal blooms control: A review. Bioresource Technology 248: 12–20. DOI: 10.1016/j.biortech.2017.07.175

Suominen S., Brauer V.S., Rantala-Ylinen A. et al. 2017. Competition between a toxic and a non-toxic Microcystis strain under constant and pulsed nitrogen and phosphorus supply. Aquatic Ecology 51: 117–130. DOI: 10.1007/s10452-016-9603-2

Takamura N., Yasuno M. 1983. Food selection of the ciliated protozoa, *Condylostoma vorticella* (Ehrenberg) in Lake Kasumigaura. Japanese Journal of Limnology (Rikusuigaku Zasshi) 44: 184–189. DOI: 10.3739/rikusui.44.184

Tarbe A.-L., Unrein F., Stenuite S. et al. 2011. Protist Herbivory: a Key Pathway in the Pelagic Food Web of Lake Tanganyika. Microbial Ecology 62: 314–323. DOI: 10.1007/s00248-011-9817-8

Tikhonenkov D.V., Mikhailov K.V., Gawryluk R.M. et al. 2022. Microbial predators form a new supergroup of eukaryotes. Nature 612(7941): 714–719. DOI: 10.1038/s41586-022-05511-5

Van de Waal D.B., Verspagen J.M.H., Finke J.F. et al. 2011. Reversal in competitive dominance of a toxic versus non-toxic cyanobacterium in response to rising CO2. The ISME Journal 5: 1438–1450. DOI: 10.1038/ismej.2011.28

Van Donk E., Cerbin S., Wilken S. et al. 2009. The effect of a mixotrophic chrysophyte on toxic and colony-forming cyanobacteria. Freshwater Biology 54: 1843–1855. DOI: 10.1111/j.1365-2427.2009.02227.x

Van Le V., Ko S.-R., Kang M. et al. 2022. Algicide capacity of *Paucibacter* aquatile DH15 on *Microcystis aeruginosa* by attachment and non-attachment effects. Environmental Pollution 302: 119079. DOI: 10.1016/j.envpol.2022.119079

Verspagen J., Visser P., Huisman J. 2006. Aggregation with clay causes sedimentation of the buoyant cyanobacteria *Microcystis* spp. Aquatic Microbial Ecology 44: 165–174. DOI: 10.3354/ame044165

Visser P.M., Verspagen J.M., Sandrini G. et al. 2016. How rising CO2 and global warming may stimulate harmful cyanobacterial blooms. Harmful algae 54: 145–159. DOI: 10.1016/j.hal.2015.12.006

Wang X., Wang P., Wang C. et al. 2018. Microcystin biosynthesis in *Microcystis aeruginosa*: Indirect regulation by iron variation. Ecotoxicology and Environmental Safety 148: 942–952. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2017.11.059

Wang Z., Huang X., Wu Y. et al. 2024. Defense against *Paramecium* predation via long filament morphology favors the survival of *Raphidiopsis raciborskii* populations. Harmful Algae 137: 102678. DOI: 10.1016/j.hal.2024.102678

Wang W., Han P., Zhang C. et al. 2026. An explainable ensemble machine-learning framework for short-term forecasting of algal blooms across contrasting Lake systems. Ecological Informatics 95: 103695. DOI: 10.1016/j.ecoinf.2026.103695

Wang Z., Wu Y., Xiao P. et al. 2026. Phenotypic defense drives cyanobacterial resurgence (Raphidiopsis raciborskii) and predator collapse (Paramecium): a challenge for cyanobacteria control and water management. Process Safety and Environmental Protection: 108868. DOI: 10.1016/j.psep.2026.108868

Wei J., Li X., Xu X. et al. 2022. Elevated temperature mitigates the prolonged effect of high nitrogen on *Microcystis aeruginosa* removal through mixotrophic *Ochromonas gloeopara* grazing. Science of The Total Environment 820: 153267. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2022.153267

Wilken S., Wiezer S., Huisman J. et al. 2010. Microcystins do not provide anti-herbivore defence against mixotrophic flagellates. Aquatic microbial ecology 59: 207–216. DOI: 10.3354/ame01395

Wu X., Wu H., Ye J. et al. 2015. Study on the release routes of allelochemicals from *Pistia stratiotes* Linn., and its anti-cyanobacteria mechanisms on *Microcystis aeruginosa*. Environmental Science and Pollution Research 22: 18994–19001. DOI: 10.1007/s11356-015-5104-4

Wu Y., Xian B., Xiang X. et al. 2025. Identification of key feature variables and prediction of harmful algal blooms in a water diversion lake based on interpretable machine learning. Environmental Research 276: 121491. DOI: 10.1016/j.envres.2025.121491

Xie P., Liu J. 2001. Practical Success of Biomanipulation using Filter-Feeding Fish to Control Cyanobacteria Blooms: A Synthesis of Decades of Research and Application in a Subtropical Hypereutrophic Lake. The Scientific World Journal 1(1): 276487. DOI: 10.1100/tsw.2001.67

Xu D., Hu Y., Yang S. et al. 2026. Explainable daily warning of algal concentration exceedance from SHAP-guided temperature and light thresholds. Journal of Environmental Chemical Engineering 14: 123014. DOI: 10.1016/j.jece.2026.123014

Xu W., Zhu H., Zhang L. et al. 2023. "Surface Browsing" May Allow "Filter-Feeding" Protozoa to Exert Top-Down Control on Colony-Forming Toxic Cyanobacterial Blooms. Environmental Science & Technology 57: 10331–10338.

Xu J., Chang X., MacIsaac H.J. et al. 2023. Is a lower-toxicity strain of *Microcystis aeruginosa* really less toxic? Aquatic Toxicology 263: 106705. DOI: 10.1016/j.aquatox.2023.106705

Yan H., Li Q., Chen B. et al. 2022. Identification and feeding characteristics of the mixotrophic flagellate *Poterioochromonas malhamensis*, a microalgal predator isolated from planting water of *Pontederia cordata*. Environmental Science and Pollution Research 29: 40599–40611. DOI: 10.1007/s11356-022-18614-3

Yan H., Li Q., Liu X. et al. 2024. Octanoic acid helps *Poterioochromonas malhamensis* control toxic *Microcystis* sp. Journal of Applied Phycology 36: 2531–2543. DOI: 10.1007/s10811-024-03301-2

Yancey C.E., Hart L., Hefferan S. et al. 2024. Metabologenomics reveals strain-level genetic and chemical diversity of *Microcystis* secondary metabolism. mSystems 9: e0033424. DOI: 10.1128/msystems.00334-24

Yang Z., Kong F., Shi X. et al. 2008. Changes in the morphology and polysaccharide content of *Microcystis aeruginosa* (Cyanobacteria) during flagellate grazing 1. Journal of Phycology 44: 716–720. DOI: 10.1111/j.1529-8817.2008.00502.x

Yang Z., Kong F., Zhang M. et al. 2009. Effect of filtered cultures of flagellate *Ochromonas* sp. on colony formation in *Microcystis aeruginosa*. International review of hydrobiology 94: 143–152. DOI: 10.1002/iroh.200811103

Yang Z., Kong F.J.J.o.L. 2012. Formation of large colonies: a defense mechanism of *Microcystis aeruginosa* under continuous grazing pressure by flagellate *Ochromonas* sp. Journal of Limnology 71: 61–66. DOI: 10.4081/jlimnol.2012.e5

Zeng G., Gao P., Wang J. et al. 2020. Algicidal molecular mechanism and toxicological degradation of *Microcystis aeruginosa* by white-rot fungi. Toxins 12: 406. DOI: 10.3390/toxins12060406

Zhang K., Qi T., Shen M. et al. 2026. Time cumulative effects and machine learning–driven forecasting of cyanobacterial blooms in data-sparse eutrophic lakes. Journal of Hydrology 668: 134966. DOI: 10.1016/j.jhydrol.2026.134966

Zhang L., Gu L., Wei Q. et al. 2017. High temperature favors elimination of toxin-producing *Microcystis* and degradation of microcystins by mixotrophic *Ochromonas*. Chemosphere 172: 96–102. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2016.12.146

Zhang L., Lyu K., Wang N. et al. 2018. Transcriptomic Analysis Reveals the Pathways Associated with Resisting and Degrading Microcystin in *Ochromonas*. Environmental Science & Technology 52:11102–11113. DOI: 10.1021/acs.est.8b03106

Zhang L., Wang Z., Wang N. et al. 2020. Mixotrophic *Ochromonas* Addition Improves the Harmful Microcystis-Dominated Phytoplankton Community in In Situ Microcosms. Environmental Science & Technology 54: 4609–4620. DOI: 10.1021/acs.est.9b06438

Zhang L., Yang J., Liu L. et al. 2021. Simultaneous removal of colonial *Microcystis* and microcystins by protozoa grazing coupled with ultrasound treatment. Journal of Hazardous Materials 420: 126616. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2021.126616

Zhang X., Hu H., Men Y. et al. 2010. The effect of *Poterioochromonas* abundance on production of intra-and extracellular microcystin-LR concentration. Hydrobiologia 652: 237–246. DOI: 10.1007/s10750-010-0335-3

Zhang X., Hu H.-Y., Hong Y. et al. 2008. Isolation of a *Poterioochromonas* capable of feeding on *Microcystis aeruginosa* and degrading microcystin-LR. FEMS Microbiology Letters 288: 241–246. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2008.01355.x

Zhang X., Hu H.-Y., Men Y.-j. et al. 2009. Feeding characteristics of a golden alga (*Poterioochromonas* sp.) grazing on toxic cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. Water Research 43: 2953–2960. DOI: 10.1016/j.watres.2009.04.003

Zhang X., Watanabe M.M. 2001. Grazing and growth of the mixotrophic chrysomonad *Poterioochromonas malhamensis* (Chrysophyceae) feeding on algae. Journal of Phycology 37: 738–743. DOI: 10.1046/j.1529-8817.2001.00127.x

Zhang X., Watanabe M.M., Inouye I.J.J.o.P. 1996. Light and Electron Microscopy of Grazing by *Poterioochromonas Malhamensis* (chrysophyceae) on a Range of Phytoplankton TAXA1. Journal of Phycology 32: 37–46. DOI: 10.1111/j.0022-3646.1996.00037.x

Zhang Y., Li J., Hu Z. et al. 2022. Transcriptome analysis reveals the algicidal mechanism of *Brevibacillus laterosporus* against *Microcystis aeruginosa* through multiple metabolic pathways. Toxins 14: 492. DOI: 10.3390/toxins14070492

Zhong W., Wang Y., Wang Y. et al. 2025. Mixotrophic flagellate *Ochromonas gloeopara* promotes heterocyst production in cyanobacteria with altered filament length. Harmful Algae 145: 102844. DOI: 10.1016/j.hal.2025.102844

Zhou X., He Y., Li H. et al. 2020. Using flocculation and subsequent biomanipulation to control microcystis blooms: A laboratory study. Harmful Algae 99: 101917. DOI: 10.1016/j.hal.2020.101917

Zhu C., Zhai X., Xi Y. et al. 2019. Progress on the development of floating photobioreactor for microalgae cultivation and its application potential. World Journal of Microbiology and Biotechnology 35: 190. DOI: 10.1007/s11274-019-2767-x

Zou H., Pan G., Chen H. et al. 2006. Removal of cyanobacterial blooms in Taihu Lake using local soils. II. Effective removal of *Microcystis aeruginosa* using local soils and sediments modified by chitosan. Environmental pollution 141: 201–205. DOI: 10.1016/j.envpol.2005.08.042

Zuo S., Wan K., Ma S.M. et al. 2014. Combined allelopathic potential of aquatic plants species to control Algae. Allelopathy Journal 34: 315–324.

Оригинальная статья

Жгутиконосцы и инфузории как агенты биоконтроля цианобактериальных цветений

Щукина М.О.[1]*, Кирюхин Б.А.[1,2], Яльцев Г.С.[1,3], Чжан М.Х.[4,5], Хо Д.[6], Гонг И.С.[4], Тихоненков Д.В.[1]

[1] *Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, Борок, 152742, Россия*
[2] *Лаборатория AquaBioSafe, Тюменский государственный университет, ул. Ленина, 25, Тюмень, 625003, Россия*
[3] *Рязанский государственный университет имени С.А. Есенина, ул. Свободы, 46, Рязань, 390000, Россия*
[4] *Институт гидробиологии, Китайская академия наук, Южная дорога Дунху, No. 7, Ухань, 430072, Китай*
[5] *Колледж передовых сельскохозяйственных наук, Университет Китайской академии наук, Бэйчэнь Силу, No. 1, Пекин, 100049, Китай*
[6] *Хулунбуирский университет, ул. Сюэфу, No. 83, Хайлар, 021008, Китай*

АННОТАЦИЯ. Вредоносное цветение водорослей (ВЦВ), в частности, цианобактериальное цветение, представляет собой глобальную экологическую проблему. Существующие физические и химические методы борьбы с ВЦВ имеют существенные ограничения, что определяет необходимость поиска эффективных и экологически безопасных альтернатив. В данном обзоре систематизированы и проанализированы литературные и собственные данные о биотических взаимодействиях жгутиконосцев и инфузорий с цианобактериями, а также оценен их потенциал в качестве агентов биоконтроля. Показано, что наиболее перспективными для контроля ВЦВ являются миксотрофные жгутиконосцы родов *Ochromonas* и *Poterioochromonas*, сочетающие устойчивость к токсичным штаммам, способность к активному выеданию различных морфотипов цианобактерий и деградации вторичных метаболитов. Среди инфузорий эффективность против нитчатых форм проявляют некоторые представители рода *Nassula*. Эффективность применения протистов определяется комплексом биотических и абиотических факторов: морфологией жертвы, физиологией хищника, соотношением численности клеток, параметрами среды и межвидовыми взаимодействиями. Отмечено, что большинство исследований ограничено лабораторными экспериментами, и для масштабирования технологий необходимы полевые испытания. Рассмотрены комбинированные подходы, сочетающие биологический контроль с физическими или химическими методами, а также возможности использования машинного обучения для прогнозирования сроков цветения и оптимизации параметров инокуляции. В качестве одного из перспективных решений предложена концептуальная схема плавучей модульной станции биоремедиации, включающей сбор биомассы, ультразвуковое разрушение колоний, выедание цианобактерий протистами и осаждение детрита. Работа обобщает современные знания и определяет направления дальнейших исследований в области биорегулирования ВЦВ с использованием протистов.

Ключевые слова: протисты, гетеротрофные жгутиконосцы, ВЦВ, инфузории, цианобактериальное цветение

Для цитирования: Щукина М.О., Кирюхин Б.А., Яльцев Г.С., Чжан М.Х., Хо Д., Гонг И.С., Тихоненков Д.В. Жгутиконосцы и инфузории как агенты биоконтроля цианобактериальных цветений // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - С. 338-371. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-338

1. Введение

Вредоносное цветение водорослей (ВЦВ), приводящее к деградации водных экосистем, является повсеместной проблемой во всем мире (Huisman et al., 2018). При цветении происходит образование огромного количества водорослевой биомассы, препятствующей проникновению света, снижение концентрации растворенного кислорода и прозрачности (Paerl and Huisman, 2009; Huisman

*Автор для переписки. Адрес e-mail: moshchukina@yandex.ru (М.О. Щукина)

Поступила: 29 июня 2026;
Принята после доработки: 28 июля 2026;
Опубликована online: 28 августа 2026

© Автор(ы) 2026. Эта работа распространяется под международной лицензией Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.

et al., 2018), выделение вторичных метаболитов, многие из которых опасны для других организмов (Huang and Zimba, 2019), что приводит к ухудшению качества воды. ВЦВ связано с активной вегетацией различных таксономических групп фототрофных микроорганизмов, например, динофлаггелят и диатомовых водорослей. Однако в пресноводных экосистемах доминирующую роль в формировании ВЦВ обычно играют цианобактерии, особенно различные штаммы *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing 1846 (Huang and Zimba, 2019), способные продуцировать более 240 вариантов микроцистина (Wang et al., 2018).

Увеличение частоты и интенсивности цианобактериальных цветений зачастую связано с изменением климата, проявляющемся в повышении температуры и уровня CO_2 (Visser et al., 2016), а также с повышением уровня антропогенной нагрузки, приводящем к усилению эвтрофикации (Paerl and Huisman, 2009; Huisman et al., 2018). Считается, что сокращение поступления питательных веществ в водоемы, в особенности соединений фосфора, было бы наиболее эффективным способом решения проблемы возникновения ВЦВ. Однако такое решение требует существенных межнациональных усилий, а результат может быть получен спустя десятилетия (Jeppesen et al., 2005; Huisman et al., 2018).

Существуют физические и химические способы борьбы с цветением цианобактерий, среди которых дноуглубление, перемешивание водной толщи, усиление аэрации, ультразвуковая обработка, применение альгицидов, коагулянтов и флокулянтов и т.п. (Kibuye et al., 2021a; b). Все эти методы имеют существенные ограничения, включая возможность вторичного загрязнения, кратковременность положительного эффекта, увеличение выработки токсинов цианобактериями, воздействие на не целевые организмы, существенные экономические затраты, невозможность повсеместного применения, особенно в больших масштабах (Huisman et al., 2018; Kibuye et al., 2021a; b).

Биологический метод регулирования цианобактериальных цветений рассматривается как наиболее перспективный, экономически выгодный и экологически безопасный (Hwang et al., 2024). В качестве агентов биоконтроля могут быть использованы различные организмы: вирусы (Pollard and Young, 2010), бактерии (Reim et al., 1974), протисты (Dryden and Wright, 1987; Jiang et al., 2025), грибы (Zeng et al., 2020), зоопланктон (Zhou et al., 2020), рыбы (Xie and Liu, 2001), водные растения (Zuo et al., 2014). Существующие биологические методы контроля также не лишены недостатков. Например, применение макрофитов может усиливать эвтрофикацию водоема (Dhote, 2007) и изменять структуру сообществ (Nezbrytska et al., 2022). Регулирование ВЦВ при помощи вирусов, бактерий, грибов, зоопланктона и рыб также может быть неэффективным, однако причины различаются в зависимости от группы агентов биоконтроля (Pal et al., 2020; Kang et al., 2024). Одним из механизмов воздействия вирусов, бактерий и грибов на цианобактерии, помимо выделения ингибиторов роста, подавляющих развитие биомассы, является лизис клеток жертвы, который нередко сопровождается выделением в среду вторичных метаболитов. Цианобактерии быстро приобретают устойчивость к цианофагам, а высокая специфичность вируса к определенным штаммам существенно ограничивает возможности их применения (Higazi et al., 2025). Механизмы воздействия бактерий и грибов на цианобактерии все еще малоизучены (Kang et al., 2024), однако отмечается, что их действие в основном косвенное и опосредовано выделением различных метаболитов, которые могут подавлять не только цианобактерии, но и другие организмы. Зоопланктон и рыбы, в свою очередь, испытывают трудности при потреблении в пищу колониальных форм и часто неустойчивы к цианотоксинам (Ernst et al., 2006; Kâ et al., 2012; Moustaka-Gouni and Sommer, 2020; Xu et al., 2023b). Кроме того, выедание зоопланктоном цианобактерий может сопровождаться разрывом их клеток и выходом в среду вторичных метаболитов с их последующей передачей на более высокие трофические уровни (Kibuye et al., 2021b).

Среди агентов биоконтроля особый интерес представляют гетеротрофные и миксотрофные протисты, являющиеся ключевыми компонентами микробной пищевой сети пресноводных экосистем (Sherr and Sherr, 2016) и обладающие рядом функциональных преимуществ. Они, как первичные потребители цианобактерий (Dryden and Wright, 1987; Tarbe et al., 2011; Kosiba et al., 2019), могут осуществлять «контроль сверху», не вызывая серьезных трофических изменений в водоеме (Xu et al., 2023a). Ввиду их важной роли как хищников фитопланктона (Dryden and Wright, 1987; Sherr and Sherr, 2016), высокой скорости размножения, способности к селективному питанию, устойчивости к вредным вторичным метаболитам и быстрой реакции на изменения среды (Payne, 2013), протистов можно рассматривать как перспективных, но требующих дальнейшего изучения агентов биоконтроля ВЦВ (Shchukina et al., 2025).

Несмотря на значительное количество исследований, посвященных контролю цианобактериальных цветений с использованием протистов, данные о роли жгутиконосцев и инфузорий остаются фрагментарными и разрозненными. Большинство работ по данной проблематике обобщают механизмы борьбы с ВЦВ и факторы, влияющие на применение различных методов (Kibuye et al., 2021a, b; Hwang et al., 2024). Существует несколько обзоров, рассматривающих метод биологического контроля ВЦВ с использованием различных групп гидробионтов (Sun et al., 2018; Pal et al., 2020). Однако потенциал жгутиконосцев и инфузорий как агентов биоконтроля ВЦВ рассматривается в них кратко и не имеет систематического обобщения.

Данное исследование посвящено систематизации и анализу литературных и собственных данных по биотическим взаимодействиям жгутиконосцев и инфузорий с цианобактериями, которые могли бы лечь в основу разработки способов

регуляции ВЦВ. На основе проведенного анализа мы обобщили преимущества и ограничения применения этих протистов и предложили концептуальную схему комплексной борьбы с цианобактериальным цветением с использованием гетеротрофных и миксотрофных эукариотических одноклеточных. Предполагается, что в состав такой технологии могут быть интегрированы методы машинного обучения, которые позволят, в частности, прогнозировать сроки начала цветения и оптимизировать параметры инокуляции агентов биоконтроля.

2. Применение жгутиконосцев и инфузорий для контроля ВЦВ

2.1. Основные механизмы воздействия одноклеточных эукариотических хищников на цианобактерии

Для эффективного применения жгутиконосцев и инфузорий в качестве агентов биоконтроля необходимо понимание механизмов взаимодействия хищника и жертвы, включая особенности питания, селективность потребления и возможные изменения поведения в составе сообщества. К настоящему времени крайне мало работ, рассматривающих анализ питания потенциальных «биоконтролеров» в водных экосистемах, как, например, жгутиконосца *Collodictyon triciliatum* (Nishibe et al., 2002) или инфузории *Nassula aurea* (Canter et al., 1990). Вероятно, именно подобные исследования являются ключом к поиску наиболее эффективных агентов биоконтроля ВЦВ среди протистов. Следует учитывать случаи, когда в лабораторных экспериментах хищник может успешно поглощать различные штаммы цианобактерий, проявлять устойчивость к токсинам, но может изменить стратегию питания, вступая в антагонистические или конкурентные взаимоотношения с другими агентами биоконтроля (Таблица 1) (Kosiba et al., 2019; Kosiba et al., 2022). Анализ исследований показал, что воздействие жгутиконосцев и инфузорий на цианобактерии реализуется несколькими путями. Это прямое выедание отдельных клеток (Chen et al., 2024), в том числе селективное по отношению к определенным штаммам или морфотипам (Takamura and Yasuno, 1983), а также объедание нитчатых колоний (Pajdak-Stós et al., 2001; Fiałkowska and Pajdak-Stós, 2002; Xu et al., 2023a).

Протисты используют различные механизмы захвата и потребления пищи, включая фагоцитоз (активный поиск и захват пищи и фильтрационное питание) и мизоцитоз. У инфузорий захват жертвы обычно осуществляется с помощью специализированного ротового аппарата – цитостома, тогда как у многих жгутиковых форм цитостом отсутствует и поглощение пиши происходит в вентральной бороздке (Leander, 2020), или же место фагоцитоза не имеет конкретной локализации в клетке. Механизм захвата пищи предопределяет не только способ потребления жертвы, но и побочные эффекты. Например, фильтрационное питание позволяет захватывать взвешенные клетки из воды, но при этом не дает возможности хищнику влиять на крупные колонии или нити. Фагоцитоз, предполагающий заглатывание целых клеток, более универсален, но требует, чтобы размер жертвы был сопоставим с размером клетки хищника (хотя известны исключения, см. Tikhonenkov et al., 2022). Мизоцитоз, напротив, позволяет высасывать содержимое клетки, не заглатывая ее целиком, однако этот механизм требует плотного контакта с жертвой. Известно, что один и тот же вид протиста может использовать разные механизмы захвата пищи. Например, некоторые инфузории способны переключаться с фильтрационного питания на «объедание» поверхности колоний цианобактерий, отщипывая отдельные клетки от крупных агрегатов (Xu et al., 2023a). Это позволяет атаковать ранее недоступные формы цианобактерий.

Малоизучен вопрос о влиянии вторичных метаболитов хищников на клетки цианобактерий. Инфузории способны выделять различные биологически активные соединения, многие из которых могут быть токсичными для других организмов (Buonanno et al., 2020), а в случае с цианобактериями – инициировать усиление их защитных механизмов (Pajdak-Stós et al., 2001; Kosiba et al., 2019). Для некоторых токсичных штаммов также отмечено увеличение активности антиоксидантных ферментов (Combes et al., 2013). Такие изменения могут снижать эффективность выедания и повышать устойчивость цианобактерий к давлению со стороны хищников. В значительно меньшей степени изучена способность жгутиконосцев продуцировать вторичные метаболиты, хотя отдельные исследования указывают на возможность ответных защитных реакций цианобактерий на присутствие питающихся ими флагеллят, как, например, в работе Yang et al. (2009). При этом до сих пор остается неясным, являются ли наблюдаемые защитные реакции исключительно следствием прямого контакта с хищником или частично обусловлены действием выделяемых им метаболитов. Можно предположить, что помимо прямого выедания некоторые протисты способны влиять на физиологическое состояние цианобактерий посредством выделения биологически активных соединений, вызывая ингибирование роста, изменение экспрессии генов или нарушение клеточного метаболизма. Подобные механизмы воздействия хорошо известны для бактерий (Calvo-Bayo et al., 2025) и грибов (Zeng et al., 2020), однако для жгутиконосцев и инфузорий остаются практически неизученными.

2.2. Ограничения и факторы эффективности контроля цианобактериальных цветений со стороны жгутиконосцев и инфузорий

Эффективность применения жгутиконосцев и инфузорий в качестве агентов биоконтроля определяется совокупностью биотических и абиотических факторов, включая селективность их питания, устойчивость к токсинам, межвидовые взаимодей-

Таблица 1. Взаимодействия между протистами и цианобактериями в процессе выедания

Вид протиста	Вид цианобактерии	Характер выедания	Способность выедать токсичные штаммы	Защитная реакция цианобактерий на выедание	Наличие цист у протиста	Метод изучения	Примечания	Источник
ЖГУТИКОНОСЦЫ								
Семейство Collodictyonidae Brugerolle et al. 2002, emend. Adl et al. 2019								
Collodictyon triciliatum	*M. aeruginosa*	НР	?	–	?	ЛЭ МЭ	Предпочитает другие виды микроводорослей	Klaveness, 1995; Nishibe et al., 2002; Kobayashi et al., 2013
Diphylleia rotans	*M. aeruginosa*	НР	+	–	–	ЛЭ	Высокая скорость выедания токсичных штаммов. Эффективность выедания зависит от параметров среды	Bo-Ra et al., 2006; Mohamed and Al-Shehri, 2013; Shchukina et al., 2025
Класс Cryptophyceae Pascher, 1913								
Cryptomonas sp.	*M. aeruginosa*	НР	+	–	+	ЛЭ	Высокая скорость роста хищника на среде из фильтрата культуры *M. aeruginosa*	Princiotta et al., 2019
Класс Chrysophyceae Pascher, 1914								
Chlorochromonas danica (= *Ochromonas danica*)	*M. aeruginosa*	ШС	+	–	+	ЛЭ	–	Cole and Wynne, 1974
*Ochromonas gloeopara**	*M. aeruginosa* *Dolichospermum flos-aquae* (= *Anabaena flos-aquae*)	ШС	?	Изменение длины нитей Образование гетероцист	+	ЛЭ МЭ	Эффективность выедания зависит от параметров среды. При повышении температуры не снижает рост популяции *Anabaena* sp.	Zhang et al., 2020; Wei et al., 2022; Zhong et al., 2025
Ochromonas sp.	*M. aeruginosa* *M. wesenbergii* *Pseudanabaena* sp.	ШС	+	Образование колоний	+	ЛЭ ПН	Высокая скорость выедания токсичных штаммов Microcystis. Важно соотношение численности хищник/жертва. Повышение температуры может ускорять выедание	Burkert et al., 2001; Yang et al., 2008; Van Donk et al., 2009; Yang et al., 2009; Wilken et al., 2010; Yang and Kong, 2012; Zhang et al., 2017; Zhang et al., 2021; Liu et al., 2023
Paraphysomonas solis solis	*M. aeruginosa*	ШС	+	–	+	ЛЭ	Высокая скорость выедания токсичных штаммов	Shchukina et al., 2025
Poteriospumella lacustris	*Microcystis* sp. *Synechocystis* sp.	ШС	+	–	+	ЛЭ	Эффективно потребляет цианобактерий в широком диапазоне параметров среды: T = 15–35 °C, pH = 6–10	Chen et al., 2024
Poterioochromonas malhamensis (= *Ochromonas malhamensis*)	*M. aeruginosa* *M. viridis* *Synechococcus* sp.	ШС	+	–	+	ЛЭ	Микроцистины могут стимулировать рост протиста, но культура жгутиконосцев в дальнейшем нежизнеспособна. Эффективность выедания зависит от параметров среды	Zhang et al., 1996; Zhang and Watanabe, 2001; Ou et al., 2005; Ma et al., 2018; Yan et al., 2022; Liu et al., 2023
Poterioochromonas sp.	*M. aeruginosa*	ШС	+	–	+	ЛЭ	Эффективность выедания зависит от параметров среды и изначального соотношения численности хищник/жертва	Zhang et al., 2008; Zhang et al., 2009; Zhang et al., 2010
Spumella guttula (= *Monas guttula*)	*Microcystis aeruginosa* *M. viridis* *Leptolyngbya tenuis* (= *Phormidium tenue*)	ШС	?	–	+	ЛЭ	Эффективность выедания зависит от параметров среды	Sugiura et al., 1991; Sugiura et al., 1992; Sugiura et al., 1997; Fujimoto et al., 2007

Вид протиста	Вид цианобактерии	Характер выедания	Способность выедать токсичные штаммы	Защитная реакция цианобактерий на выедание	Наличие цист у протиста	Метод изучения	Примечания	Источник
ИНФУЗОРИИ								
Класс Heterotrichea Stein, 1859								
Blepharisma americanum	*M. aeruginosa*	ШС	? –	–	+	ЛЭ	Снижение биообъема и ширины клеток инфузорий при питании цианобактериями	Chapman et al., 2019
Condylostomum vorticella	*Microcystis* sp.	ОС	?	–	?	ПН	Не способен выедать нитчатых цианобактерий и формы с шипами	Takamura and Yasuno, 1983
Stentor roeselii	*M. aeruginosa*	НР	?	–	–	ЛЭ	Антагонизм с бактерией *Streptomyces neyagawensis*	Kim et al., 2007
Класс Oligohymenophorea de Puytorac et al., 1974								
Frontonia leucas	*Oscillatoria prolifica*	НР	–		–	МЭ		Dias and Dagosto, 2006
Paramecium sp.	*Microcystis* sp. *Raphidiopsis raciborskii* (= *Cylindrospermopsis raciborskii*)	ОС	?	Формирование длинных нитей	–	ЛЭ	Не способен выедать крупные колонии	Xu et al., 2023a; Wang et al., 2024
Paramecium cf. *caudatum*	*Raphidiopsis raciborskii* (= *Cylindrospermopsis raciborskii*)	ШС	+	?	–	ЛЭ	Важно соотношение численности хищник/жертва	Fabbro et al., 2001
Vorticella sp.	*M. aeruginosa*	НР	?	–	+	ЛЭ	Слабая устойчивость в присутствии токсичных штаммов	Shchukina et al., 2025
Класс Nassophorea Small & Lynn 1981								
Furgasonia blochmanni	*Phormidium* sp. *P. autumnale*	ШС	?	Усиление образования слизи и утолщение оболочек	+	ЛЭ МЭ	Важно изначальное соотношение численности хищник/жертва. Не способна выедать крупные слизистые скопления цианобактерий	Pajdak-Stós et al., 2001; Fiałkowska and Pajdak-Stós, 2002
Nassula sp.	*Planktothrix agardhii*	ШС	+	–	+	ЛЭ	Рост на токсичном штамме цианобактерий медленный. Увеличение выделения антиоксидантных ферментов инфузорией	Combes et al., 2013
Nassula aurea	*Aphanizomenon flos-aquae* f. *gracile*	ОС	?	–	+	ПН	Антагонизм с другими инфузориями. Не выедает слизистые колонии или нити большого размера	Canter et al., 1990
Nassula ornata	*Oscillatoria agardhii*	НР	?	–	+	ЛЭ	Эффективность выедания зависит от параметров среды. Инфузории способны к активному потреблению *O. agardhii*, но в водоемах выедаются копеподами и молодью рыбы	Brabrand et al., 1983

Вид протиста	Вид цианобактерии	Характер выедания	Способность выедать токсичные штаммы	Защитная реакция цианобактерий на выедание	Наличие цист у протиста	Метод изучения	Примечания	Источник
Pseudomicrothorax dubius	*Phormidium autumnale* *Phormidium* sp.	ШС	?	Образование крупных нитчатых агрегатов, выделение полисахаридов. Втягивание трихом внутри оболочек	+	ЛЭ МЭ	Не может выедать крупные слизистые скопления	Fiałkowska and Pajdak-Stós, 1997; Pajdak-Stós et al., 2001; Fyda et al., 2009
Класс Spirotrichea Bütschli 1889								
Tetmemena pustulata	*M. aeruginosa*	НР	?	Образование колоний	+	ЛЭ	Неоднозначный характер выедания, с подъемами и спадами численности хищника и *M. aeruginosa*	Shchukina et al., 2025
Эксперименты с сообществами инфузорий								
Spirostomum minus *Euplotes aediculatus* *Strobilidium* sp. *Vorticella* sp. *Paramecium tetraurelia*	*Aphanizomenon flos-aquae*	ШС	?	–	– – + + –	ЛЭ	Важно изначальное соотношение численности хищник/жертва. Взаимодействия вариабельны для разных видов инфузорий	Kosiba et al., 2022
Spirostomum sp. *Paramecium aurelia*-complex *Euplotes patella* *Strobilidium* sp.	*Planktothrix agardhii* *M. aeruginosa*	НР	+	–	– – – +	ЛЭ	Конкуренция между инфузориями, не выедают *Aphanizomenon flos-aquae*	Kosiba et al., 2019

Примечание:

Характер выедания: ШС – широкий спектр потребления жертвы, ОС – ограниченный спектр потребления жертвы, НР – неоднозначные результаты. * – Таксономический и номенклатурный статус требуют уточнения.

Метод изучения: ЛЭ – лабораторные эксперименты для двух штаммов хищник/жертва (не аксеничные культуры), МЭ – исследования в микрокосме, мезокосме или прудах, ПН – природные наблюдения.

Иные обозначения: (+) способен выедать/устойчив; (–) не подтверждено; (?) недостаточно данных.

ствия с другими протистами и цианобактериями, соотношение плотности хищника и жертвы, а также параметры среды. Одним из ключевых ограничений является то, что многие протисты плохо выедают колониальные формы цианобактерий. Даже если выедание происходит, оно часто носит селективный характер, связанный с морфологическими особенностями жертвы. Например, инфузории *Paramecium* sp. и *Furgasonia blochmanni* способны выедать нитчатые и колониальные формы цианобактерий, однако они не могут потреблять крупные колониальные формы (Таблица 1).

Для защиты от выедания цианобактерии имеют некоторые формы защиты, среди которых образование шаровидных или бесформенных колоний и нитчатых агрегатов, усиление выделения вторичных метаболитов, включая выделение большого количества слизи, образование более толстых клеточных стенок (Fiałkowska and Pajdak-Stós, 2002; Yang and Kong, 2012; Zhong et al., 2025). Избирательное или селективное выедание может привести к усугублению ВЦВ, так как оно способно изменять генетическую структуру популяций цианобактерий, отбирая устойчивые генотипы, при этом общая их биомасса может не снижаться (Fiałkowska and Pajdak-Stós, 2002; Wang et al., 2024; Huré et al., 2026; Wang et al., 2026b). Этот эффект необходимо учитывать при прямом инокулировании жгутиконосцев и инфузорий, поскольку неконтролируемая биологическая регуляция может также приводить к сдвигу структуры популяций в сторону отбора устойчивых штаммов. При этом выделение микроцистина не обязательно является реакцией на выедание (Wilken et al., 2010). Вместе с тем, длительное воздействие цианобактерий на агентов биоконтроля может привести к смещению видового разнообразия в сторону более адаптированных и устойчивых штаммов хищников, как было показано на дафниях (см. Ger et al., 2016).

Защитные реакции цианобактерий во многом вызваны постепенным давлением со стороны хищника, поэтому решением проблемы могло бы быть увеличение начальной концентрации клеток агента биоконтроля, который выел бы основную биомассу цианобактерий быстро (Burkert et al., 2001; Zhang et al., 2009), до возникновения колониальных форм. Альтернативой может быть внесение в водоем ингибиторов, полученных от бактерий или грибов (Mohamed et al., 2014; Zhang et al., 2022; Van Le et al., 2022), подавляющих образование колониальных форм цианобактерий.

Многие рассматриваемые нами работы показывают, что жгутиконосцы проявляют большую устойчивость к токсичным штаммам цианобактерий, чем инфузории (см. Таблицу 1). При этом наличие или отсутствие токсинов у цианобактерий не всегда однозначно определяет эффективность их выедания. В проведенных нами лабораторных экспериментах отмечается более медленное выедание нетоксинопродуцирующих культур цианобактерий (Shchukina et al., 2025), что согласуется с некоторыми предыдущими исследованиями (Bo-Ra et al., 2006; Wilken et al., 2010). Несмотря на то, что производство вторичных метаболитов требует больших затрат энергии и ресурсов (Pančić and Kiørboe, 2018), в некоторых работах отмечается более высокая скорость роста токсичных штаммов по сравнению со слаботоксичными или нетоксичными культурами цианобактерий (Van de Waal et al., 2011; Suominen et al., 2017; Brown et al., 2025). В ряде исследований наблюдается обратная ситуация, когда скорость клеточного деления выше у нетоксинпродуцирующих штаммов, особенно под влиянием абиотических или биотических факторов (Kardinaal et al., 2007; Van de Waal et al., 2011). Вероятно, задержка роста за счет лимитирования параметров среды может позволить одноклеточным хищникам быстрее подавлять увеличение биомассы и нивелировать эффекты образования иных форм защиты жертвы. При этом, разные штаммы цианобактерий способны выделять совершенно непохожие метаболиты (Yancey et al., 2024; Huré et al., 2026), что может приводить к ограничению универсальности использования одного клона или вида хищного протиста в качестве агента биоконтроля.

Несмотря на многочисленные сведения о способности протистов к разложению вторичных метаболитов цианобактерий, этот вопрос остается практически неизученным. На примере *Ochromonas gloeopara* были предложены возможные механизмы деградации микроцистина на основе транскриптомного анализа (Zhang et al., 2018). Предполагается, что в этом процессе принимают участие лизосомальные ферменты, активные формы кислорода, образующиеся в пищеварительных вакуолях, а также глутатион и глутатион-S-трансферазы. Более подробно биодеградация микроцистина изучена на примере бактерий (Nybom, 2013). Механизм предполагает три этапа: разрушение циклической структуры, гидролиз линейной молекулы до тетрапептида, а затем до более мелких пептидов и аминокислот. Различные исследования подтверждают, что конечные продукты биодеградации микроцистинов не токсичны, в то время как промежуточные продукты, а именно линейная форма микроцистина, могут быть слаботоксичными. При этом вопрос о цикле производных микроцистина остается слабоизученным (Nybom, 2013).

Некоторые потенциальные агенты биоконтроля способны не только выедать цианобактерии, но и использовать продукты их метаболизма для роста. Примером могут служить некоторые штаммы *Poterioochromonas malhamensis* (Ou et al., 2005) и *Cryptomonas* sp. (Princiotta et al., 2019). Культуры хищников не просто выживали в присутствии токсичных цианобактерий или их вторичных метаболитов, а показывали стремительный рост, но в дальнейшем теряли свою жизнеспособность. Применение таких агентов биоконтроля возможно для регулирования кратковременной вспышки ВЦВ. Быстрый рост этих протистов с отмиранием биомассы потенциально может оказать меньшее влияние на трофическую структуру водоема при их использовании в биотехнологиях.

Эффективность выедания может существенно определяться особенностями межвидовых взаимодействий хищника и жертвы, а также взаимодействиями различных агентов биоконтроля между собой. Примером служат сложные связи между инфузорией *Vorticella* sp. и нитчатыми цианобактериями, которые даже могут приобретать мутуалистический характер. Так, *Vorticella* sp. использует нити *Anabaena* sp. в качестве субстрата и дополнительного источника биогенов (Kerr, 1983; Pratt and Rosen, 1983; Canter et al., 1990; Canter et al., 1992). При этом токи воды, создаваемые ресничками инфузорий, усиливают поступление питательных веществ к поверхности нитей цианобактерий (Pratt and Rosen, 1983), а сами прикрепленные вортицеллы служат дополнительным защитным барьером против других хищных инфузорий (Canter et al., 1990). Вопросы взаимодействия хищных агентов биоконтроля с жертвой, между собой, а также между хищниками и другими гидробионтами изучены крайне слабо. В некоторых исследованиях рассматриваются взаимодействия нескольких потенциальных биоконтролеров при регулировании ВЦВ, например, в работах Kosiba et al., 2019, 2022, однако подобные наблюдения обычно имеют вспомогательный характер и редко становятся основной целью исследования. В результате существующие данные пока не позволяют надежно прогнозировать совместимость различных видов протистов для контроля цианобактериальных цветений.

Существенное значение для эффективности биоконтроля имеет исходное соотношение численности клеток хищника и жертвы. При недостаточной плотности культуры хищника в лучшем случае можно ожидать низкую скорость его роста и слабое выедание цианобактерий, как было показано в эксперименте с *Paramecium* cf. *caudatum* (Fabbro et al., 2001). Возможно, что при низкой численности протист может переключиться на более доступную пищу, как это наблюдалось для одного из штаммов *Ochromonas* sp. (Burkert et al., 2001). Не исключено также, что в такой ситуации цианобактерии могут подавить развитие хищника, однако конкретные механизмы такого подавления, например, действие вторичных метаболитов, повышение pH, дефицит кислорода или иные факторы, требуют дальнейшего изучения (Burkert et al., 2001). С другой стороны, использование чрезмерно плотной культуры протистов может иметь негативный эффект, как было показано в эксперименте с инфузорией *Furgasonia blochmanni* (Fiałkowska and Pajdak-Stós, 2002), где с увеличением численности протиста происходило усиление защитной реакции цианобактерий, проявлявшейся в увеличении выделения слизи и образовании толстых клеточных оболочек.

Помимо биотических взаимодействий, эффективность применения протистов в качестве агентов биоконтроля зависит от параметров среды. На наш взгляд, учет параметров среды важен, поскольку он определяет диапазон и наиболее благоприятные условия для применения агента биоконтроля. Скорость роста жгутиконосцев и эффективность выедания ими во многих экспериментах зависит от температуры, pH, концентрации биогенных элементов (N и P), освещенности и других факторов (Ma et al., 2018; Wei et al., 2022). Некоторые протисты хотя и обладают устойчивостью к присутствию токсичных штаммов цианобактерий, могут применяться лишь при температуре 20°C, как, например, *Paraphysomonas solis solis* (Shchukina et al., 2025) и некоторые штаммы *Ochromonas* sp. (Burkert et al., 2001). Однако это не исключает возможности их использования. Температуры, наиболее способствующие росту и размножению цианобактерий, превышают 25 °C (Paerl and Huisman, 2009; Visser et al., 2016), тогда как пик активного продуцирования микроцистина может достигаться при более низких температурах, около 18–20 °C (Peng et al., 2018). Результаты наших собственных экспериментальных исследований показывают, что при совместном культивировании *P. solis solis* и *M. aeruginosa* при 20 °C отмечено резкое снижение концентрации внутриклеточного токсина микроцистиса. Кроме того, жгутиконосцы *P. solis solis* при данной температуре успешно выедали клетки токсичного и нетоксичного штаммов *M. aeruginosa* при трех вариантах pH среды (5, 7, 9), причем в слабокислой среде полное выедание цианобактерий происходило уже на второй день эксперимента. Наши предварительные эксперименты с другим потребителем цианобактерий, *Poterioochromonas malhamensis*, показали, что при температуре 25°C и различных условиях освещенности (0, 20, 40, 60, 100 мкмоль фотонов $м^{-2}{\cdot}с^{-1}$). Однофакторный анализ ANOVA подтвердил статистическую значимость влияния интенсивности света как на скорость выедания ($p < 0.001$), так и на скорость деградации микроцистина ($p < 0.001$). Согласно апостериорному тесту Тьюки (Tukey HSD), максимальные значения обоих показателей наблюдались при 40 мкмоль фотонов $м^{-2}{\cdot}с^{-1}$. В частности, скорость выедания при данном уровне освещения была статистически значимо выше, чем в темноте ($p < 0.05$) и при 20 мкмоль фотонов $м^{-2}{\cdot}с^{-1}$ ($p < 0.001$), тогда как скорость деградации микроцистина значимо превышала показатели в условиях отсутствия света ($p < 0.001$). Хотя при 40 мкмоль фотонов $м^{-2}{\cdot}с^{-1}$ оба параметра были несколько выше, чем при 60 и 100 мкмоль фотонов $м^{-2}{\cdot}с^{-1}$, выявленные различия не являлись статистически значимыми ($p > 0.05$).

Таким образом, хотя биологические подходы контроля цианобактериальных цветений с помощью жгутиконосцев и инфузорий имеют ряд недостатков и ограничений, некоторые проблемы могут быть преодолены за счет правильного подбора агентов биоконтроля, а отсутствие «универсального» вида протиста, эффективного при различных температурах, компенсируется возможностью выбора клона, оптимально работающего в температурных условиях конкретного водоема, а также возможностью создания консорциума хищных видов, адаптированных к различным абиотическим и биотическим факторам.

2.3. Оценка перспективных агентов биоконтроля

В мире было проведено множество исследований, рассматривающих потенциал использования жгутиконосцев и инфузорий для регулирования цианобактериальных цветений (Таблица 1). В основном эти публикации представляют результаты лабораторных экспериментов, и лишь единичные работы нацелены на анализ сообществ в естественных водоемах или на применение биоконтроля в микро- и мезокосмах. Анализ литературы показывает, что жгутиконосцы и инфузории демонстрируют не только устойчивость в присутствии цианобактерий, но и способность к активному выеданию их разных морфотипов и деградации вторичных метаболитов. Эффективность применения протистов носит вариативный характер, определяемый структурной организацией цианобактериальных популяций (преимущественно одиночные или колониальные клетки), соотношением плотности клеток хищника и жертвы, гидрофизическими и гидрохимическими параметрами среды, межвидовыми взаимодействиями самих агентов биоконтроля между собой и с жертвой.

Анализ систематизированного нами материала (Таблица 1) показывает, что наиболее перспективными для биоконтроля цианобактерий, в частности *Microcystis* spp., являются миксотрофные жгутиконосцы рода *Ochromonas* и *Poterioochromonas* из семейства Chrysophyceae. Большое разнообразие штаммов, способность к образованию цист и деградации токсинов, активное выедание цианобактерий делают их наиболее универсальными агентами биоконтроля ВЦВ. Другая хризомонада *Poteriospumella lacustris* в экспериментах также показала способность к активному поглощению цианобактерий, в том числе токсичных штаммов, в широком диапазоне параметров среды. Однако наличие единственной работы Chen et al. (2024) не позволяет в полной мере оценить перспективность данного хищника.

Показано, что жгутиконосцы и инфузории способны выедать нитчатые формы цианобактерий, однако инфузории, например, некоторые представители рода *Nassula* sp., справляются с этим эффективнее (Таблица 1). Но при этом даже они не могут поглощать слишком крупные нити. Логично предположить, что механическое разрушение цианобактериальных нитей сделало бы их клетки более доступными для потребления.

На основании анализа имеющихся в литературе данных жгутиконосцы *Collodictyon* sp., *Diphylleia rotans*, *Cryptomonas* sp. и инфузории *Stentor roeselii*, *Frontonia leucas*, *Vorticella* sp., *Nassula ornata*, *Tetmemena pustulata*, представляются менее перспективными в качестве агентов биоконтроля, однако такая оценка остается предварительной. Показательны в этом смысле противоречивые результаты исследований инфузорий *Vorticella* sp. (Kosiba et al., 2022; Shchukina et al., 2025) и жгутиконосцев *Collodictyon* sp. (Klaveness, 1995; Nishibe et al., 2002; Kobayashi et al., 2013). Эти протисты способны потреблять цианобактерии, но при этом демонстрируют слабую жизнеспособность в присутствии токсичных штаммов, предпочитают другие водоросли в качестве кормового объекта, вступают в мутуалистические взаимоотношения с жертвой или конкурируют с другими хищниками. Аналогичные противоречия отмечены для жгутиконосца *Diphylleia rotans* и инфузории *Tetmemena pustulata* (Таблица 1). Более точная оценка устойчивости и эффективности таких организмов в качестве агентов биоконтроля цианобактериальных цветений возможна после проведения дополнительных экспериментальных и полевых исследований.

3. Элементы технологий контроля цианобактериальных цветений

3.1. Комбинированные подходы контроля цианобактериальных цветений

Применение комбинированных подходов, включающих в себя разные сочетания физических, химических и биологических методов позволяет обойти ограничения и/или недостатки одиночных способов борьбы с цианобактериальными цветениями.

3.1.1. Физико-биологический подход

В лабораторных условиях совмещение физических и биологических воздействий на цианобактерий показало положительные результаты. Например, обработка ультразвуком способствует разрушению колониальных форм *Microcystis*, что позволяет жгутиконосцам рода *Ochromonas* эффективно выедать клетки цианобактерий, которые были ранее недоступны в составе колоний (Zhang et al., 2021). Одиночное же применение ультразвуковой обработки без использования протистов нецелесообразно, т.к. при высоких частотах сохраняется риск разрушения клеток (в том числе не целевых), и высвобождение токсичных метаболитов в среду. К недостаткам такого подхода можно отнести его экономическую затратность.

3.1.2. Химико-биологический подход

Перспективными представляются также комбинации химических и биологических методов. Например, в лабораторных экспериментах показано, что применение октановой кислоты, оказывающей ингибирующее воздействие на *Microcystis* sp., ускорило процесс выедания цианобактерий хризомонадой *Poterioochromonas malhamensis* (Yan et al., 2024). Другим вариантом совместного применения химических и биологических методов является использование флокуляции (сбор водорослей в более крупные хлопья (флокулы) для их последующего быстрого осаждения) с сообществом протистов. Обычно, для флокуляции *M. aeruginosa* используют нескольких типов глин (Pan et al., 2006), бентонит и каолинит (Verspagen et al., 2006), озерные осадки

(Pan et al., 2006; Zou et al., 2006), биоразлагаемый хитозан (Zou et al., 2006). Хотя метод флокуляции сам по себе считается недорогим, безопасным и экологически чистым способом борьбы с ВЦВ, он не лишен существенных недостатков, среди которых возможность возникновения повторного цветения, усиление выделения токсинов, заиливание дна, сложности в подборе дозировки. Кроме того, флокуляция эффективна только в глубоководных водоемах, а для полного удаления биомассы цианобактерий часто требуется ее повторное применение (Peng et al., 2019; Lürling et al., 2020). Можно предположить, что применение флокуляции с комплексом протистов могло бы увеличить эффективность применения данного метода. Дело в том, что похожий подход предложен Lee et al. (2024), в котором бактерии были предварительно иммобилизованы на поверхности монтмориллонитовой глины с использованием катионов кальция или марганца в качестве связующего звена между отрицательно заряженной глиной и клетками. Возможно, потенциал применения сообщества хищных протистов в сочетании с флокуляций также весьма высок, однако прояснение данного вопроса требует специальных исследований.

3.1.3. Совместное использование различных биоконтролеров

В рамках обсуждения комбинирования различных методов регулирования ВЦВ следует упомянуть о возможном совместном применении жгутиконосцев и инфузорий с другими организмами. Например, для ингибирования роста цианобактериальных клеток используются бактерии, такие как *Bacillus* sp., *Brevibacillus* sp., *Leuconostoc* sp., *Paucibacter* sp., *Streptomyces lushanensis*, которые способны оказывать непрямое воздействие на цианобактерий посредством выделения антибиотиков, биосурфактантов, аминокислот, алкалоидов или иных ферментов (Reim et al., 1974; Zhang et al., 2022; Van Le et al., 2022). Аллелохимические вещества макрофитов, среди которых фенольные соединения, жирные кислоты, терпеноиды и алкалоиды, нарушают функционирование фотосинтетических и ферментативных систем цианобактерий, а также нарушают целостность клеточной мембраны, как, например, в работе Wu et al. (2015). Представляется, что совместное действие нескольких биоконтролеров может подавлять рост цианобактерий быстрее, чем применение различных групп организмов по отдельности. При формировании потенциальных консорциумов, в том числе и для групп состоящих из нескольких видов протистов, важно учитывать отсутствие между агентами биоконтроля выраженных антагонистических взаимодействий, вероятность хищничества, сходство требований к параметрам среды, а также возможность возникновения мутуалистических отношений с жертвой. Однако обоснованность и практическая значимость данных критериев требуют дальнейшей экспериментальной проверки.

3.2. Аспекты прямой инокуляции биоконтролеров

Прямое инокулирование как определенных видов, так и комплексов видов протистов для борьбы с цианобактериями применялось в основном в рамках лабораторных экспериментов (см. Таблицу 1). Также есть ряд исследований, выполненных в мезокосмах (см. Таблицу 1) и в искусственных водоемах (Kobayashi et al., 2013). Прямая инокуляция хищника для контроля ВЦВ в водоеме требует большого объема его биомассы, которую необходимо предварительно нарастить. При этом селективность питания различных протистов создает предпосылки к использованию комплекса видов, так как универсального агента биоконтроля, по-видимому, не существует. Оптимальным решением для масштабирования технологий биоконтроля и облегчения логистики представляется использование цист простейших. Локальное поддержание живых культур сопряжено с высокими затратами, тогда как инцистированные формы могут храниться годами. Большинство протистов, являющихся перспективными для разработки технологий борьбы с ВЦВ деградации цианотоксинов, имеют покоящиеся стадии, что может существенно упростить их культивирование, хранение и использование для регулирования цианобактериальных цветений.

Природные популяции цианобактерий, таких как *Microcystis*, включают смесь многочисленных штаммов (Kurmayer et al., 2002), поэтому, возможно, перспективным решением было бы создание искусственного консорциума протистов из нескольких видов, нацеленных на разные морфотипы цианобактерий и устойчивых при различных условиях среды. Такой подход должен учитывать наличие межвидовых взаимодействий между используемыми видами хищников и доминирующим комплексом планктона природного объекта. Так, многие инфузории выделяют токсичные вторичные метаболиты, а также проявляют антагонизм в присутствии других хищников. Для жгутиконосцев такие эффекты менее изучены. Учитывая широкую распространенность жгутиконосцев в водоемах, их искусственное внесение вряд ли приведет к серьезным экологическим рискам. Вероятно, даже при наличии конкуренции между разными видами хищников, увеличение общей численности жгутиконосцев усилит давление на цианобактерии. Это важный момент, поскольку одним из рисков применения биологического контроля является занесение инвазивных видов. Применение комплекса протистов могло бы также предотвратить сдвиг популяции цианобактерий в сторону доминирования какого-либо морфотипа.

Следует учитывать, что неконтролируемая биоманипуляция сопряжена с серьезными экологическими рисками, которые не ограничиваются только возможной интродукцией инвазивных видов. Внесение протистов в экосистему и искусственное поддержание их высокой численности могут существенно изменить структуру пище-

вых сетей, характер межвидовых взаимодействий и состав биологических сообществ. Несмотря на важную роль жгутиконосцев и инфузорий в функционировании микробной петли (Sherr and Sherr, 2016), имеющихся сведений о последствиях искусственного регулирования численности протистов в водных экосистемах пока недостаточно для надежного прогнозирования и оценки возможных экологических эффектов. Поэтому любые стратегии биоконтроля должны сопровождаться предварительной оценкой потенциальных долгосрочных экологических последствий и последующим мониторингом состояния экосистемы.

Прямое инокулирование может быть целесообразно преимущественно в небольших замкнутых и/или искусственных водоемах. В крупных водных экосистемах точный расчет необходимой биомассы агента биоконтроля затруднен из-за мозаичности распределения цианобактерий и высокой погрешности. Ошибки в определении соотношения численности хищника и жертвы критичны: заниженная плотность хищника не остановит цветение, а ее превышение может привести к усилению защитных механизмов цианобактерий, переходу хищника к питанию другими (не целевыми) организмами, массовой гибели самого агента биоконтроля и вторичному загрязнению водоема продуктами распада.

3.3. Плавучие модульные станции биоремедиации

В качестве перспективного направления для регулирования ВЦВ в водных экосистемах можно рассматривать проектирование мобильных автономных модульных станций. Метод сочетает в себе механический сбор биомассы цианобактерий при помощи скиммероподобных установок и локализованную внутри биореактора интенсивную обработку протистами. В отличие от внесения агентов биоконтроля в открытую воду, данные установки изолируют рабочую биомассу внутри реактора. При этом в них же возможно культивирование самих агентов биоконтроля (например, установки, описанные в работах Kusterer et al., 2008; Zhu et al., 2019; Meyer, 2026). Внедрение в биореактор дополнительных систем для механического разрушения колоний или нитчатых агрегатов сделало бы жертву более доступной и позволило ускорить процесс потребления цианобактерий. По нашему мнению, в качестве агентов биоконтроля целесообразно использовать не монокультуры, а консорциумы жгутиконосцев и инфузорий, наиболее адаптированных под параметры среды водной экосистемы и устойчивых к токсинам цианобактерий. Подобные плавучие установки потенциально позволили бы осуществлять контролируемое биорегулирование ВЦВ без риска инвазии или осаждения на дно продуктов распада отмершей биомассы агентов биоконтроля и их прижизненных выделений. В настоящее время уже существуют различные автономные системы для контроля загрязнения воды (Sheng et al., 2013; Cui et al., 2018) и биореакторы для культивирования микроорганизмов вне лабораторных условий (Zhu et al., 2019; Meyer, 2026). В качестве примера плавучего реактора можно привести модернизированную систему, разработанную Cui et al. (2018). В ней совместное использование макрофитов и бактерий на субстрате из цеолита и известняка позволяет проводить очистку воды от общего азота, общего фосфора и аммонийного азота (NH_4^+ - N). Комбинирование подобных установок с консорциумами протистов позволит решить проблему выедания цианобактерий с сопутствующей деградацией вторичных метаболитов, сочетающееся с минимальным вмешательством в водную экосистему за счет локализации технологического процесса внутри установки. Подобные системы могли бы применяться как на крупных водных объектах, так и на небольших водоемах, в т.ч. с использованием автоматизации. Однако существует необходимость в выводе отмершей биомассы самих хищников и не до конца переваренных остатков цианобактерий из биореакторов.

3.4. Прогнозирование с помощью машинного обучения

Для определения оптимального времени инокуляции и выбора наиболее подходящего вида протиста могут быть использованы методы машинного обучения, например, CatBoost или XGBoost. Эти алгоритмы относятся к семейству градиентного бустинга на деревьях решений. Модель обучается на исторических данных, включающих температуру воды, концентрацию биогенных элементов, плотность и морфологию цианобактерий, а также итоговую эффективность биоконтроля. На основе выявленных нелинейных зависимостей CatBoost или XGBoost классифицируют текущую ситуацию и рекомендуют оптимальный режим работы (Salamah et al., 2026). Преимущества этих методов – высокая точность, устойчивость к переобучению, встроенная обработка пропусков и категориальных признаков (особенно у CatBoost), что делает их удобными для принятия оперативных решений при регулировании ВЦВ (Wu et al., 2025; Wang et al., 2026a).

Помимо градиентного бустинга для контроля цветений цианобактерий может применяться алгоритм случайного леса (Random Forest). Этот ансамблевый метод строит деревья решений параллельно и усредняет их прогнозы, что обеспечивает высокую устойчивость к шуму и позволяет легко интерпретировать результаты (Zhang et al., 2026; Xu et al., 2026). В более сложных случаях, когда необходимо улавливать временные зависимости в многолетних рядах наблюдений, перспективны рекуррентные нейронные сети, такие как, LSTM и GRU, способные обучаться на последовательных данных и выявлять скрытые закономерности (Recknagel et al., 2025).

Однако все перечисленные методы требуют размеченных обучающих данных, т.е. данных о ранее успешных сценариях регулирования цветений цианобактерий. Альтернативой может служить обучение с подкреплением (Reinforcement Learning, RL). В этом случае агент (модель) взаимодействует со средой (водоемом или его симуляцией), после-

довательно выбирая параметры управления – вид протиста, время введения и количество культуры агента биоконтроля. Затем модель получает оценку результативности, отражающую эффективность биоконтроля, например, снижение биомассы цианобактерий или продолжительность эффекта от применения биоконтроля. Обучаясь на основе обратной связи, модель методом проб и ошибок самостоятельно вырабатывает стратегию, адаптируемую к текущему состоянию экосистемы, без необходимости в предварительно размеченных данных об успешных решениях (Pyo et al., 2025). Такой подход особенно перспективен в условиях нестабильных параметров среды, когда динамика цветения может меняться непредсказуемо.

Выбор конкретного метода определяется сложностью решаемой задачи, объемом и качеством доступных данных, а также вычислительными ресурсами и требованиями к оперативности. Древовидные модели (CatBoost, XGBoost, Random Forest) быстрее обучаются и требуют меньше настройки, так как количество критически важных параметров, таких как глубина дерева, минимальное число объектов в листе или скорость обучения, невелико. Это упрощает оценку вклада каждого фактора и делает модели удобными при ограниченных вычислительных ресурсах (Recknagel et al., 2025; Wu et al., 2025). Нейросетевые подходы потенциально способны дать более высокую точность при наличии длинных временных рядов и сложных нелинейных взаимодействий, однако требуют больших вычислительных затрат и «подбора архитектуры», а также работают как «черный ящик», т.е. являются сложными для объяснения и трудноинтерпретируемыми (Recknagel et al., 2025; Wang et al., 2026a). На практике целесообразно тестировать несколько типов моделей, находя компромисс между точностью прогноза и ресурсоемкостью в условиях конкретного водоема (Wang et al., 2026a).

4. Концептуальная схема модульной станции биоремедиации для контроля цианобактериальных цветений с использованием живых культур протистов

Ниже мы предлагаем возможную схему устройства плавучей модульной станции биоремедиации для контроля ВЦВ с использованием протистов. Установка представляет собой вертикально ориентированную плавучую платформу способную перемещаться к очагу ВЦВ для сбора поверхностной биомассы цианобактерий и последовательной очистки воды. Схематическое изображение конструкции приведено на Рис. 1 и 2. Подобная технология может быть развернута в водоеме как в активной стадии цветения, так и на начальной стадии, сразу после обнаружения очага ВЦВ, что на крупных водоемах можно делать с помощью дронов или спутниковых снимков. Устройство разделено на пять основных модулей.

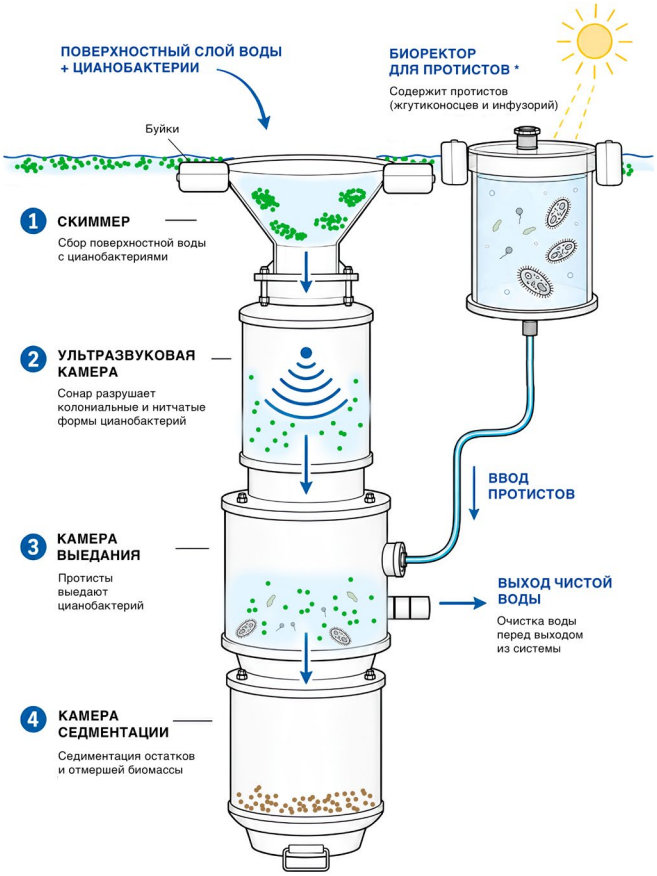


Рис.1. Концептуальная схема устройства плавучего модульной станции биоремедиации для регулирования ВЦВ. * – на схеме показан один биореактор; для культивирования нескольких видов или штаммов протистов может быть предусмотрено несколько независимых биореакторов-ферментеров.

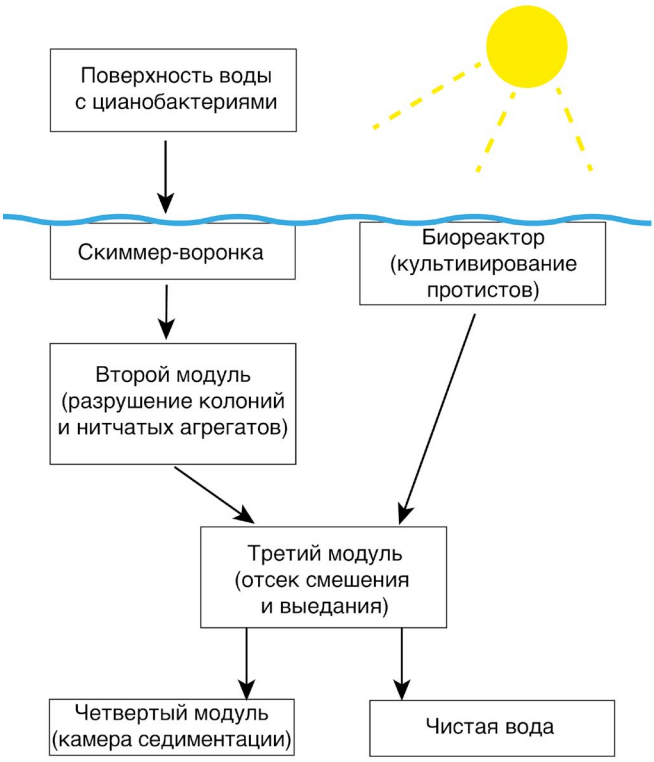


Рис.2. Концептуальная схема работы плавучего биореактора для регулирования ВЦВ.

Первый модуль представляет собой скиммер-воронку с крышкой с возможностью регулировки пропускной способности. Он собирает поверхностный слой воды с цианобактериями. Сбор биомассы может осуществляться разными способами: регулировкой уровня погружения скиммера, направляющими бонами или шлангами, насосами для создания локального всасывания и течения. Выбор механизма зависит от характеристик акватории (глубины, площади, наличия течения и др.).

Второй модуль – отсек для разрушения колониальных форм. Одним из недостатков использования жгутиконосцев и инфузорий является их неспособность разрушать крупные колонии. Наличие данного модуля позволяет обойти это ограничение. В камере используется ультразвуковой излучатель (сонар) на низких частотах, чтобы разрушать колонии без полного разрушения клеток.

Третий модуль – камера смешения, куда поступают обработанные ультразвуком цианобактерии и протисты из внешнего биореактора. Здесь происходит выедание клеток. Очищенная вода выходит обратно в водоем через систему фильтрации, минимизирующую выход непереваренных остатков и самих протистов.

Четвертый модуль – съемная камера седиментации для осаждения мертвой биомассы и остатков цианобактерий. Наличие данного модуля снижает риск повторного загрязнения водного объекта и эвтрофикации. Очистка модуля требуется раз в сезон или по мере необходимости, так как для выедания не нужны огромные объемы культур. Осадок потенциально можно использовать как удобрение или биотопливо.

Пятый модуль представляет собой внешний биореактор-ферментер, необходимый для наращивания и содержания культур различных агентов биоконтроля. Он соединен трубкой с камерой смешения. Биореактор может быть расположен у поверхности воды для доступа естественного света, который необходим для культивирования светозависимых культур жгутиконосцев, но может быть оснащен искусственным освещением и размещен в любом месте.

Вода, поступающая в скиммер, проходит через систему оптических и флуоресцентных датчиков, регистрирующих спектральные характеристики клеток и агрегатов. Полученные данные обрабатываются с использованием алгоритмов машинного обучения, которые позволяют классифицировать цианобактерии по таксономической принадлежности, оценивать их концентрацию и определять морфотип (колониальный, нитчатый, одноклеточный) (Meirkhanova et al., 2024; Fernández-Manteca et al., 2025). Анализ в режиме реального времени дает возможность оперативно подбирать из биореактора культуру того протиста, который наиболее эффективен против выявленного типа цианобактерий при текущих параметрах среды. Однако на сегодняшний день портативность подобных технологий ограничена, и более реалистичным представляется отбор стандартной пробы с последующим быстрым анализом с помощью спектрофотометрических методов. В зависимости от полученных данных из соответствующего биореактора в камеру смешения подается культура того протиста, который наиболее эффективен против данного типа цианобактерий. Реализация такого подхода предполагает наличие нескольких независимых биореакторов, каждый из которых содержит отдельный штамм агента биоконтроля. Хотя предполагается, что цианобактерии будут выедаться протистами без разрушения их клеточной стенки, вода, поступающая в скиммер, может содержать цианотоксины. В перспективе, для решения этой проблемы, можно было бы использовать биопленки с бактериями, способными выделять ферменты в среду для разложения внеклеточного микроцистина (Kumar et al., 2019; Morón-López et al., 2020). Для энергообеспечения устройства можно использовать солнечные батареи или аккумуляторы, что позволит автоматизировать процесс. За счет системы буйков устройство может оставаться на поверхности воды, а при дополнительной установке двигателей возможно перемещение биореактора по акватории.

Описанное устройство не обязательно имеет вертикальную ориентацию, как показано на схеме (Рис. 1 и 2). Подобная концептуальная схема требуют инженерной доработки и проверки на водоемах. Такие решения были бы особенно актуальны для искусственных водоемов и аквахозяйств, а их автоматизация в совокупности с использованием нейросетей для анализа и прогнозирования цветений в водных объектах позволят достичь максимального эффекта в борьбе с ВЦВ.

5. Заключение

Жгутиконосцы и инфузории обладают значительным потенциалом в качестве агентов биоконтроля цианобактериальных цветений. Наиболее перспективными на сегодняшний день являются миксотрофные жгутиконосцы, прежде всего представители родов *Ochromonas* и *Poterioochromonas*, сочетающие устойчивость к токсичным штаммам, способность к активному выеданию различных морфотипов цианобактерий и деградации вторичных метаболитов. Среди инфузорий некоторых представителей *Nassula* sp. можно считать наиболее эффективными для борьбы с ВЦВ, вызванным нитчатыми формами цианей. Однако для более точной оценки необходима проверка на способность выедания одиночных клеток и колониальных форм, а также на устойчивость к токсичным штаммам.

Эффективность применения протистов определяется совокупностью факторов, среди которых морфология и защитные механизмы жертвы, физиология и экология хищника, исходное соотношение численности клеток хищника и жертвы, гидрофизические и гидрохимические параметры среды и межвидовые взаимодействия.

Оценка эффективности применения протистов для контроля ВЦВ в настоящее время ограничена в основном лабораторными экспериментами,

поэтому применение жгутиконосцев и инфузорий следует рассматривать как перспективный, но требующий дальнейшей экспериментальной и полевой проверки метод. Наиболее перспективными в борьбе с цветением цианобактерий представляются комбинированные подходы, сочетающие биологический контроль с физическими или химическими методами, а также методы прогнозирования ВЦВ на основе машинного обучения, обеспечивающие оптимизацию сроков вмешательств.

В качестве одного из возможных решений мы предлагаем концептуальную схему плавучей модульной станции биоремедиации, обеспечивающего сбор поверхностной биомассы цианобактерий, ультразвуковое разрушение колоний, выедание клеток цианобактерий протистами в камере смешения, осаждение формирующегося осадка/детрита и биореактор-ферментер для культивирования агентов биоконтроля. Устройство потенциально может автономно перемещаться по акватории и регулировать культивируемый вид протиста для контроля ВЦВ с использованием машинного обучения для выбора оптимального хищника в зависимости от типа цветения.

При этом актуальными задачами остаются поиск наиболее универсальных и устойчивых агентов биоконтроля, изучение их экологических взаимодействий и масштабирование безопасных технологий контроля ВЦВ для естественных и искусственных водных экосистем на основе экспериментов в микро- и мезокосмах.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности

Данная работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 24-44-00093) https://rscf.ru/project/24-44-00093/. Работа Цзяна М.Х. и Гун Ю.Ч. была выполнена при финансовой поддержке Национального фонда естественных наук Китая (№ 32361133561).

Список литературы

Bo-Ra K., Shin-ichi N., Baik-Ho K. et al. 2006. Grazing and growth of the heterotrophic flagellate *Diphylleia rotans* on the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. Aquatic Microbial Ecology 45: 163–170. DOI: 10.3354/ame045163

Brabrand Å., Faafeng B.A., Källqvist T. et al. 1983. Biological control of undesirable cyanobacteria in culturally eutrophic lakes. Oecologia 60: 1–5. DOI: 10.1007/BF00379311

Brown S.M., Blaszczak J.R., Shriver R.K. et al. 2025. Growth and anatoxin-a production of *Microcoleus* (Cyanobacteria) strains from streams in California, USA. Harmful Algae 144: 102834. DOI: 10.1016/j.hal.2025.102834

Buonanno F., Catalani E., Cervia D. et al. 2020. Natural Function and Structural Modification of Climacostol, a Ciliate Secondary Metabolite. Microorganisms 8(6): 809. DOI: 10.3390/microorganisms8060809

Burkert U., Hyenstrand P., Drakare S. et al. 2001. Effects of the mixotrophic flagellate *Ochromonas* sp. on colony formation in *Microcystis aeruginosa*. Aquatic Ecology 35: 11–17. DOI: 10.1023/A:1011454313607

Calvo-Bayo I., Bolívar-Galiano F., Romero-Noguera J. 2025. Algicidal Bacteria: A Sustainable Proposal to Control Microalgae in the Conservation and Restoration of Stone Cultural Heritage. Sustainability 17(23): 10610. DOI: 10.3390/su172310610

Canter H.M., Heaney S.I., Lund J.W.G. 1990. The ecological significance of grazing on planktonic populations of cyanobacteria by the ciliate *Nassula*. New Phytologist 114: 247–263. DOI: 10.1111/j.1469-8137.1990.tb00397.x

Canter H.M., Walsby A.E., Kinsman R. et al. 1992. The effect of attached vorticellids on the buoyancy of the colonial cyanobacterium *Anabaena lemmermannii*. British Phycological Journal 27: 65–74. DOI: 10.1080/00071619200650081

Chapman I.J., Franklin D.J., Turner A.D. et al. 2019. Predator-prey interactions between the ciliate *Blepharisma americanum* and toxic (*Microcystis* spp.) and non-toxic (*Chlorella vulgaris*, *Microcystis* sp.) photosynthetic microbes. Aquatic Microbial Ecology 83: 211–224. DOI: 10.3354/ame01913

Chen S., Xie W., Lin X. et al. 2024. Controlling toxic *Microcystis* blooms: The power of a novel microalgal predator *Poteriospumella lacustris* in water safety improvement. Journal of Cleaner Production 441: 141011. DOI: 10.1016/j.jclepro.2024.141011

Cole G.T., Wynne M.J. 1974. Endocytosis of *Microcystis aeruginosa* by *Ochromonas danica*. Journal of Phycology 10(4): 397–410. DOI: 10.1111/j.1529-8817.1974.tb02732.x

Combes A., Dellinger M., Cadel-six S. et al. 2013. Ciliate *Nassula* sp. grazing on a microcystin-producing cyanobacterium (*Planktothrix agardhii*): impact on cell growth and in the microcystin fractions. Aquatic Toxicology 126: 435–441. DOI: 10.1016/j.aquatox.2012.08.018

Cui N., Chen G., Liu Y. et al. 2018. Comparison of two different ecological floating bio-reactors for pollution control in hyper-eutrophic freshwater. Scientific Reports 8(1): 14306. DOI: 10.1038/s41598-018-32151-5

Dhote S. 2007. Role Of Macrophytes In Improving Water Quality Of An Aquatic Eco-system. Journal of Applied Sciences and Environmental Management 11: 133–135.

Dias R., Dagosto M. 2006. Feeding behavior of *Frontonia leucas* (Ehrenberg) (Protozoa, Ciliophora, Hymenostomatida) under different environmental conditions in a lotic system. Revista Brasileira De Zoologia 23(3): 758–763. DOI: 10.1590/S0101-81752006000300021

Dryden R.C., Wright S.J.L. 1987. Predation of cyanobacteria by protozoa. Canadian Journal of Microbiology 33: 471–482. DOI: 10.1139/m87-080

Ernst B., Hoeger S.J., O'Brien E. et al. 2006. Oral toxicity of the microcystin-containing cyanobacterium *Planktothrix rubescens* in European whitefish (*Coregonus lavaretus*). Aquatic Toxicology 79: 31–40. DOI: 10.1016/j.aquatox.2006.04.013

Fabbro L., Baker M., Duivenvoorden L. et al. 2001. The effects of the ciliate *Paramecium* cf. *caudatum* Ehrenberg on toxin producing *Cylindrospermopsis* isolated from the Fitzroy River, Australia. Environmental Toxicology 16: 489–497. DOI: 10.1002/tox.10007

Fernández-Manteca M.G., García B.G., Álvarez S.D. et al. 2025. Comprehensive Raman spectroscopy analysis for differentiating toxic cyanobacteria through multichannel 1D-CNNs and SHAP-based explainability. Talanta 292: 127845. DOI: 10.1016/j.talanta.2025.127845

Fiałkowska E., Pajdak-Stós A. 2002. Dependence of Cyanobacteria defense mode on grazer pressure. Aquatic Microbial Ecology 27: 149–157. DOI: 10.3354/ame027149

Fiałkowska E., Pajdak-stós A. 1997. Inducible defence against a ciliate grazer *Pseudomicrothorax dubius*, in two strains of *Phormidium* (cyanobacteria). Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences 264: 937–941. DOI: 10.1098/rspb.1997.0129

Fujimoto N., Ohno N., Tanaka K. et al. 2007. Degradation of the cyanobacterial hepatotoxin microcystin by bacteria isolated from a monoxenic culture of the flagellate *Monas guttula*. Jpn. J. Water Treat. Biol 43: 99–111. DOI: 10.2521/jswtb.43.99

Fyda J., Nosek J., Wiąckowski K. et al. 2009. Effects of grazers' species identity on cyanobacteria in bitrophic and tritrophic food webs. FEMS Microbiology Ecology 68(3): 329–339. DOI: 10.1111/j.1574-6941.2009.00676.x

Ger K.A., Urrutia-Cordero P., Frost P.C. et al. 2016. The interaction between cyanobacteria and zooplankton in a more eutrophic world. Harmful Algae 54: 128–144. DOI: 10.1016/j.hal.2015.12.005

Higazi M., Kolan D., Cattan-Tsaushu E. et al. 2025. Nitrogen availability shapes evolution of phage resistance in cyanobacteria. The ISME Journal 19(1): wraf180. DOI: 10.1093/ismejo/wraf180

Huang I.S., Zimba P.V. 2019. Cyanobacterial bioactive metabolites – A review of their chemistry and biology. Harmful Algae 86: 139–209. DOI: 10.1016/j.hal.2018.11.008

Huisman J., Codd G.A., Paerl H.W. et al. 2018. Cyanobacterial blooms. Nature Reviews Microbiology 16: 471–483. DOI: 10.1038/s41579-018-0040-1

Huré A., Le Meur M., Duval C. et al. 2026. Metabolite diversity of *Microcystis* strains shows tight correspondence to genotype and may contribute to ecotype specificities. Communications Biology 9: 305. DOI: 10.1038/s42003-026-09599-7

Hwang S.-O., Cho I.-H., Kim H.-K. et al. 2024. Toward a brighter future: enhanced sustainable methods for preventing algal blooms and improving water quality. Hydrobiology 3: 100–118. DOI: 10.3390/hydrobiology3020008

Jeppesen E., Søndergaard M., Jensen J.P. et al. 2005. Lake responses to reduced nutrient loading – an analysis of contemporary long-term data from 35 case studies. Freshwater biology 50: 1747–1771. DOI: 10.1111/j.1365-2427.2005.01415.x

Jiang M., Gong Y., Tikhonenkov D. 2025. Feeding of Vampirellid Amoeba (Leptophryidae) on Cyanobacteria. Inland Water Biology 18: 1504–1509. DOI: 10.1134/S1995082925601376

Kâ S., Mendoza-Vera J.M., Bouvy M. et al. 2012. Can tropical freshwater zooplankton graze efficiently on cyanobacteria? Hydrobiologia 679: 119–138. DOI: 10.1007/s10750-011-0860-8

Kang M., Jeong S., Ko S.-R. et al. 2024. Biotechnological approaches for suppressing *Microcystis* blooms: insights and challenges. Applied Microbiology and Biotechnology 108: 466. DOI: 10.1007/s00253-024-13260-w

Kardinaal W.E., Tonk L., Janse I. et al. 2007. Competition for light between toxic and nontoxic strains of the harmful cyanobacterium *Microcystis*. Applied and environmental microbiology 73: 2939–2946. DOI: 10.1128/AEM.02892-06

Kerr S.J. 1983. Colonization of blue-green algae by *Vorticella* (Ciliata: Peritrichida). Transactions of the American Microscopical Society 102(1): 38–47. DOI: 10.2307/3225923

Kibuye F.A., Zamyadi A., Wert E.C. 2021. A critical review on operation and performance of source water control strategies for cyanobacterial blooms: Part I-chemical control methods. Harmful Algae 109: 102099. DOI: 10.1016/j.hal.2021.102099

Kibuye F.A., Zamyadi A., Wert E.C. 2021. A critical review on operation and performance of source water control strategies for cyanobacterial blooms: Part II-mechanical and biological control methods. Harmful Algae 109: 102119. DOI: 10.1016/j.hal.2021.102119

Kim B., Hwang S., Kim Y. et al. 2007. Effects of Biological Control Agents on Nuisance Cyanobacterial and Diatom Blooms in Freshwater Systems. Microbes and Environments 22: 52–58. DOI: 10.1264/jsme2.22.52

Klaveness D. 1995. *Collodictyon triciliatum* H. J. Carter(1865)-- a common but fixation-sensitive algivorous flagellate from the limnopelagial. Nordic journal of freshwater research. Drottningholm 70: 3–11. DOI: 10.1078/1434-4610-00083

Kobayashi Y., Hodoki Y., Ohbayashi K. et al. 2013. Grazing impact on the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* by the heterotrophic flagellate *Collodictyon triciliatum* in an experimental pond. Limnology 14(1): 43–49. DOI: 10.1007/s10201-012-0384-6

Kosiba J., Krztoń W., Koreivienė J. et al. 2022. Interactions between ciliate species and *Aphanizomenon flos-aquae* vary depending on the morphological form and biomass of the diazotrophic cyanobacterium. International Journal of Environmental Research and Public Health 19(22): 15097. DOI: 10.3390/ijerph192215097

Kosiba J., Wilk-Woźniak E., Krztoń W.J.H. 2019. The effect of potentially toxic cyanobacteria on ciliates (Ciliophora). Hydrobiologia 827(1): 325–335. DOI: 10.1007/s10750-018-3783-9

Kumar P., Hegde K., Brar S.K. et al. 2019. Novel fluidized-bed biofilm reactor for concomitant removal of microcystin-LR and organics. Chemical Engineering Journal 359: 99–111. DOI: 10.1016/j.cej.2018.11.119

Kurmayer R., Dittmann E., Fastner J. et al. 2002. Diversity of Microcystin Genes within a Population of the Toxic Cyanobacterium *Microcystis* spp. in Lake Wannsee (Berlin, Germany). Microbial Ecology 43: 107–118. DOI: 10.1007/s00248-001-0039-3

Kusterer A., Krause C., Kaufmann K. et al. 2008. Fully automated single-use stirred-tank bioreactors for parallel microbial cultivations. Bioprocess and Biosystems Engineering 31: 207–215. DOI: 10.1007/s00449-007-0195-z

Leander B.S. 2020. Predatory protists. Current Biology 30: R510-R516. DOI: 10.1016/j.cub.2020.03.052

Lee J.W., Jeong S.-Y., Kim T.G. 2024. Effects of Montmorillonite-Cation-Microorganism Complexes on Photosynthetic Activity, Growth, and Precipitation of *Chlorella vulgaris* and *Microcystis aeruginosa*. Microbiology and Biotechnology Letters 52: 372–382. DOI: 10.48022/mbl.2408.08015

Liu S., Feng W., Tang Y. et al. 2023. Isolation and identification of two mixotrophic flagellates and their feeding on *Microcystis*. International Journal of Science 10(5): 7–15.

Lürling M., Kang L., Mucci M. et al. 2020. Coagulation and precipitation of cyanobacterial blooms. Ecological Engineering 158: 106032. DOI: 10.1016/j.ecoleng.2020.106032

Ma M., Gong Y., Hu Q. 2018. Identification and feeding characteristics of the mixotrophic flagellate *Poterioochromonas malhamensis*, a microalgal predator isolated from outdoor massive *Chlorella* culture. Algal Research 29: 142–153. DOI: 10.1007/s11356-022-18614-3

Meirkhanova A., Marks S., Feja N. et al. 2024. Spectral Algal Fingerprinting and Long Sequencing in Synthetic Algal-Microbial Communities. Cells 13(18): 1552. DOI: 10.3390/cells13181552

Meyer B.L. 2026. Bioreactor Stages. In: Meyer B.L. (Ed.), Designing Farms in Space: Balances for Life Support, Food and Settlement. Springer Nature Switzerland. Cham, pp. 257–280. DOI: 10.1007/978-3-032-04395-5_8

Mohamed Z.A., Al-Shehri A.M. 2013. Grazing on *Microcystis aeruginosa* and degradation of microcystins by the heterotrophic flagellate *Diphylleia rotans*. Ecotoxicology and environmental safety 96: 48–52. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2013.06.015

Mohamed Z.A., Hashem M., Alamri S.A. 2014. Growth inhibition of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* and degradation of its microcystin toxins by the fungus *Trichoderma citrinoviride*. Toxicon 86: 51–58. DOI: 10.1016/j.toxicon.2014.05.008

Morón-López J., Nieto-Reyes L., Molina S. et al. 2020. Exploring microcystin-degrading bacteria thriving on recycled membranes during a cyanobacterial bloom. Science of The Total Environment 736: 139672. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.139672

Moustaka-Gouni M., Sommer U. 2020. Effects of Harmful Blooms of Large-Sized and Colonial Cyanobacteria on Aquatic Food Webs. Water 12 (6): 1587. DOI: 10.3390/w12061587

Nezbrytska I., Usenko O., Konovets I. et al. 2022. Potential Use of Aquatic Vascular Plants to Control Cyanobacterial Blooms: A Review. Water 14(11): 1727. DOI: 10.3390/w14111727

Nishibe Y., Kawabata Z., Nakano S. 2002. Grazing on *Microcystis aeruginosa* by the heterotrophic flagellate *Collodictyon triciliatum* in a hypertrophic pond. Aquatic microbial ecology 29(2): 173–179. DOI: 10.3354/ame029173

Nybom S. 2013. Biodegradation of cyanobacterial toxins. In: Petre M (ed) InTech, Rijeka, pp. 147–170. DOI: 10.5772/55511

Ou D., Song L., Gan N. et al. 2005. Effects of microcystins on and toxin degradation by *Poterioochromonas* sp. Environmental Toxicology: An International Journal 20(3): 373–380. DOI: 10.1002/tox.20114

Paerl H.W., Huisman J. 2009. Climate change: a catalyst for global expansion of harmful cyanobacterial blooms. Environmental microbiology reports 1: 27–37. DOI: 10.1111/j.1758-2229.2008.00004.x

Pajdak-Stós A., Fiałkowska E., Fyda J. 2001. *Phormidium autumnale* (Cyanobacteria) defense against three ciliate grazer species. Aquatic Microbial Ecology 23: 237–244. DOI: 10.3354/AME023237

Pal M., Yesankar P.J., Dwivedi A. et al. 2020. Biotic control of harmful algal blooms (HABs): A brief review. Journal of Environmental Management 268: 110687. DOI: 10.1016/j.jenvman.2020.110687

Pan G., Zhang M.-M., Chen H. et al. 2006. Removal of cyanobacterial blooms in Taihu Lake using local soils. I. Equilibrium and kinetic screening on the flocculation of *Microcystis aeruginosa* using commercially available clays and minerals. Environmental Pollution 141: 195–200. DOI: 10.1016/j.envpol.2005.08.041

Pančić M., Kiørboe T. 2018. Phytoplankton defence mechanisms: traits and trade-offs. Biological Reviews 93: 1269–1303. DOI: 10.1111/brv.12395

Payne R.J. 2013. Seven reasons why protists make useful bioindicators. Acta Protozoologica 52(3): 105–113. DOI: 10.4467/16890027AP.13.0011.1108

Peng G., Martin R.M., Dearth S.P. et al. 2018. Seasonally relevant cool temperatures interact with N chemistry to increase microcystins produced in lab cultures of *Microcystis aeruginosa* NIES-843. Environmental science & technology 52: 4127–4136. DOI: 10.1021/acs.est.7b06532

Peng L., Lei L., Xiao L. et al. 2019. Cyanobacterial removal by a red soil-based flocculant and its effect on zooplankton: an experiment with deep enclosures in a tropical reservoir in China. Environmental Science and Pollution Research 26: 30663–30674. DOI: 10.1007/s11356-018-2572-3

Pollard P.C., Young L.M. 2010. Lake viruses lyse cyanobacteria, *Cylindrospermopsis raciborskii*, enhances filamentous-host dispersal in Australia. Acta Oecologica 36: 114–119. DOI: 10.1016/j.actao.2009.10.007

Pratt J.R., Rosen B.H. 1983. Associations of species of *Vorticella* (Peritrichida) and planktonic algae. Transactions of the American Microscopical Society 102(1): 48–54. DOI: 10.2307/3225924

Princiotta S.D., Hendricks S.P., White D.S. 2019. Production of Cyanotoxins by *Microcystis aeruginosa* Mediates Interactions with the Mixotrophic Flagellate *Cryptomonas*. Toxins 11(4): 223. DOI: 10.3390/toxins11040223

Pyo J., Baek S.-S., Abbas A. et al. 2025. Improving reservoir water quality by optimizing weir operations with reinforcement learning and SWAT. Ecohydrology & Hydrobiology 25: 100679. DOI: 10.1016/j.ecohyd.2025.100679

Recknagel F., Shan K., Adrian R. et al. 2025. Early warning of harmful cyanobacteria blooms based on high frequency in situ monitoring and intelligible machine learning modelling: The case study of Lake Müggelsee (Germany). Water Research 287: 124514. DOI: 10.1016/j.watres.2025.124514

Reim R.L., Shane M.S., Cannon R.E. 1974. The characterization of a *Bacillus* capable of blue-green bactericidal activity. Canadian Journal of Microbiology 20: 981–986. DOI: 10.1139/m74-152

Salamah S.K., Kheimi M., Zounemat-Kermani M. 2026. Integrating ensemble and contrastive learning with explainable AI for modeling eutrophication-driven algal risks. Environmental Monitoring and Assessment 198: 462. DOI: 10.1007/s10661-026-15320-2

Shchukina M.O., Zagumyonnyi D.G., Belyaev A.O. et al. 2025. Isolation of novel clones of predatory protists and their grazing on toxic and non-toxic *Microcystis aeruginosa* Kützing, 1846, a prevalent cyanobacterium linked to harmful algal blooms. Protistology 19: 298–317. DOI: 10.21685/1680-0826-2025-19-4-3

Sheng Y., Qu Y., Ding C. et al. 2013. A combined application of different engineering and biological techniques to remediate a heavily polluted river. Ecological Engineering 57: 1–7. DOI: 10.1016/j.ecoleng.2013.04.004

Sherr E.B., Sherr B.F. 2016. Phagotrophic Protists: Central Roles in Microbial Food Webs. In: Glibert, P.M., Kana, T.M. (Eds.), Aquatic Microbial Ecology and Biogeochemistry: A Dual Perspective. Springer International Publishing, Cham, pp. 3–12. DOI: 10.1007/978-3-319-30259-1_1

Sugiura N., Inamori Y., Ouchiyama T. et al. 1992. Degradation of cyanobacteria, *Microcystis* by microflagellate, *Monas guttula*. Water Science and Technology 26: 2173. DOI: 10.2521/jswtb.43.99

Sugiura N., Inamori Y., Sudo R. et al. 1991. Effects of Physicochemical Factors on Graze and Decomposition of Blue-green alga, *Microcystis aeruginosa* by Mastigophora, *Monas guttula*. Japanese Journal of Water Treatment Biology 27: 111–116. DOI: 10.2521/jswtb.27.111

Sugiura N., Nishimura O., Inamori Y. et al. 1997. Grazing characteristics of musty-odor-compound-producing *Phormidium tenue* by a microflagellate, *Monas guttula*. Water Research 31: 2792–2796. DOI: 10.1016/S0043-1354(97)00115-2

Sun R., Sun P., Zhang J. et al. 2018. Microorganisms-based methods for harmful algal blooms control: A review. Bioresource Technology 248: 12–20. DOI: 10.1016/j.biortech.2017.07.175

Suominen S., Brauer V.S., Rantala-Ylinen A. et al. 2017. Competition between a toxic and a non-toxic Microcystis strain under constant and pulsed nitrogen and phosphorus supply. Aquatic Ecology 51: 117–130. DOI: 10.1007/s10452-016-9603-2

Takamura N., Yasuno M. 1983. Food selection of the ciliated protozoa, *Condylostoma vorticella* (Ehrenberg) in Lake Kasumigaura. Japanese Journal of Limnology (Rikusuigaku Zasshi) 44: 184–189. DOI: 10.3739/rikusui.44.184

Tarbe A.-L., Unrein F., Stenuite S. et al. 2011. Protist Herbivory: a Key Pathway in the Pelagic Food Web of Lake Tanganyika. Microbial Ecology 62: 314–323. DOI: 10.1007/s00248-011-9817-8

Tikhonenkov D.V., Mikhailov K.V., Gawryluk R.M. et al. 2022. Microbial predators form a new supergroup of eukaryotes. Nature 612(7941): 714–719. DOI: 10.1038/s41586-022-05511-5

Van de Waal D.B., Verspagen J.M.H., Finke J.F. et al. 2011. Reversal in competitive dominance of a toxic versus non-toxic cyanobacterium in response to rising CO2. The ISME Journal 5: 1438–1450. DOI: 10.1038/ismej.2011.28

Van Donk E., Cerbin S., Wilken S. et al. 2009. The effect of a mixotrophic chrysophyte on toxic and colony-forming cyanobacteria. Freshwater Biology 54: 1843–1855. DOI: 10.1111/j.1365-2427.2009.02227.x

Van Le V., Ko S.-R., Kang M. et al. 2022. Algicide capacity of *Paucibacter* aquatile DH15 on *Microcystis aeruginosa* by attachment and non-attachment effects. Environmental Pollution 302: 119079. DOI: 10.1016/j.envpol.2022.119079

Verspagen J., Visser P., Huisman J. 2006. Aggregation with clay causes sedimentation of the buoyant cyanobacteria *Microcystis* spp. Aquatic Microbial Ecology 44: 165–174. DOI: 10.3354/ame044165

Visser P.M., Verspagen J.M., Sandrini G. et al. 2016. How rising CO2 and global warming may stimulate harmful cyanobacterial blooms. Harmful algae 54: 145–159. DOI: 10.1016/j.hal.2015.12.006

Wang X., Wang P., Wang C. et al. 2018. Microcystin biosynthesis in *Microcystis aeruginosa*: Indirect regulation by iron variation. Ecotoxicology and Environmental Safety 148: 942–952. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2017.11.059

Wang Z., Huang X., Wu Y. et al. 2024. Defense against *Paramecium* predation via long filament morphology favors the survival of *Raphidiopsis raciborskii* populations. Harmful Algae 137: 102678. DOI: 10.1016/j.hal.2024.102678

Wang W., Han P., Zhang C. et al. 2026. An explainable ensemble machine-learning framework for short-term forecasting of algal blooms across contrasting Lake systems. Ecological Informatics 95: 103695. DOI: 10.1016/j.ecoinf.2026.103695

Wang Z., Wu Y., Xiao P. et al. 2026. Phenotypic defense drives cyanobacterial resurgence (Raphidiopsis raciborskii) and predator collapse (Paramecium): a challenge for cyanobacteria control and water management. Process Safety and Environmental Protection: 108868. DOI: 10.1016/j.psep.2026.108868

Wei J., Li X., Xu X. et al. 2022. Elevated temperature mitigates the prolonged effect of high nitrogen on *Microcystis aeruginosa* removal through mixotrophic *Ochromonas gloeopara* grazing. Science of The Total Environment 820: 153267. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2022.153267

Wilken S., Wiezer S., Huisman J. et al. 2010. Microcystins do not provide anti-herbivore defence against mixotrophic flagellates. Aquatic microbial ecology 59: 207–216. DOI: 10.3354/ame01395

Wu X., Wu H., Ye J. et al. 2015. Study on the release routes of allelochemicals from *Pistia stratiotes* Linn., and its anti-cyanobacteria mechanisms on *Microcystis aeruginosa*. Environmental Science and Pollution Research 22: 18994–19001. DOI: 10.1007/s11356-015-5104-4

Wu Y., Xian B., Xiang X. et al. 2025. Identification of key feature variables and prediction of harmful algal blooms in a water diversion lake based on interpretable machine learning. Environmental Research 276: 121491. DOI: 10.1016/j.envres.2025.121491

Xie P., Liu J. 2001. Practical Success of Biomanipulation using Filter-Feeding Fish to Control Cyanobacteria Blooms: A Synthesis of Decades of Research and Application in a Subtropical Hypereutrophic Lake. The Scientific World Journal 1(1): 276487. DOI: 10.1100/tsw.2001.67

Xu D., Hu Y., Yang S. et al. 2026. Explainable daily warning of algal concentration exceedance from SHAP-guided temperature and light thresholds. Journal of Environmental Chemical Engineering 14: 123014. DOI: 10.1016/j.jece.2026.123014

Xu W., Zhu H., Zhang L. et al. 2023. “Surface Browsing” May Allow “Filter-Feeding” Protozoa to Exert Top-Down Control on Colony-Forming Toxic Cyanobacterial Blooms. Environmental Science & Technology 57: 10331–10338.

Xu J., Chang X., MacIsaac H.J. et al. 2023. Is a lower-toxicity strain of *Microcystis aeruginosa* really less toxic? Aquatic Toxicology 263: 106705. DOI: 10.1016/j.aquatox.2023.106705

Yan H., Li Q., Chen B. et al. 2022. Identification and feeding characteristics of the mixotrophic flagellate *Poterioochromonas malhamensis*, a microalgal predator isolated from planting water of *Pontederia cordata*. Environmental Science and Pollution Research 29: 40599–40611. DOI: 10.1007/s11356-022-18614-3

Yan H., Li Q., Liu X. et al. 2024. Octanoic acid helps *Poterioochromonas malhamensis* control toxic *Microcystis* sp. Journal of Applied Phycology 36: 2531–2543. DOI: 10.1007/s10811-024-03301-2

Yancey C.E., Hart L., Hefferan S. et al. 2024. Metabologenomics reveals strain-level genetic and chemical diversity of *Microcystis* secondary metabolism. mSystems 9: e0033424. DOI: 10.1128/msystems.00334-24

Yang Z., Kong F., Shi X. et al. 2008. Changes in the morphology and polysaccharide content of *Microcystis aeruginosa* (Cyanobacteria) during flagellate grazing 1. Journal of Phycology 44: 716–720. DOI: 10.1111/j.1529-8817.2008.00502.x

Yang Z., Kong F., Zhang M. et al. 2009. Effect of filtered cultures of flagellate *Ochromonas* sp. on colony formation in *Microcystis aeruginosa*. International review of hydrobiology 94: 143–152. DOI: 10.1002/iroh.200811103

Yang Z., Kong F.J.J.o.L. 2012. Formation of large colonies: a defense mechanism of *Microcystis aeruginosa* under continuous grazing pressure by flagellate *Ochromonas* sp. Journal of Limnology 71: 61–66. DOI: 10.4081/jlimnol.2012.e5

Zeng G., Gao P., Wang J. et al. 2020. Algicidal molecular mechanism and toxicological degradation of *Microcystis aeruginosa* by white-rot fungi. Toxins 12: 406. DOI: 10.3390/toxins12060406

Zhang K., Qi T., Shen M. et al. 2026. Time cumulative effects and machine learning–driven forecasting of cyanobacterial blooms in data-sparse eutrophic lakes. Journal of Hydrology 668: 134966. DOI: 10.1016/j.jhydrol.2026.134966

Zhang L., Gu L., Wei Q. et al. 2017. High temperature favors elimination of toxin-producing *Microcystis* and degradation of microcystins by mixotrophic *Ochromonas*. Chemosphere 172: 96–102. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2016.12.146

Zhang L., Lyu K., Wang N. et al. 2018. Transcriptomic Analysis Reveals the Pathways Associated with Resisting and Degrading Microcystin in *Ochromonas*. Environmental Science & Technology 52:11102–11113. DOI: 10.1021/acs.est.8b03106

Zhang L., Wang Z., Wang N. et al. 2020. Mixotrophic *Ochromonas* Addition Improves the Harmful Microcystis-Dominated Phytoplankton Community in In Situ Microcosms. Environmental Science & Technology 54: 4609–4620. DOI: 10.1021/acs.est.9b06438

Zhang L., Yang J., Liu L. et al. 2021. Simultaneous removal of colonial *Microcystis* and microcystins by protozoa grazing coupled with ultrasound treatment. Journal of Hazardous Materials 420: 126616. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2021.126616

Zhang X., Hu H., Men Y. et al. 2010. The effect of *Poterioochromonas* abundance on production of intra-and extracellular microcystin-LR concentration. Hydrobiologia 652: 237–246. DOI: 10.1007/s10750-010-0335-3

Zhang X., Hu H.-Y., Hong Y. et al. 2008. Isolation of a *Poterioochromonas* capable of feeding on *Microcystis aeruginosa* and degrading microcystin-LR. FEMS Microbiology Letters 288: 241–246. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2008.01355.x

Zhang X., Hu H.-Y., Men Y.-j. et al. 2009. Feeding characteristics of a golden alga (*Poterioochromonas* sp.) grazing on toxic cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. Water Research 43: 2953–2960. DOI: 10.1016/j.watres.2009.04.003

Zhang X., Watanabe M.M. 2001. Grazing and growth of the mixotrophic chrysomonad *Poterioochromonas malhamensis* (Chrysophyceae) feeding on algae. Journal of Phycology 37: 738–743. DOI: 10.1046/j.1529-8817.2001.00127.x

Zhang X., Watanabe M.M., Inouye I.J.J.o.P. 1996. Light and Electron Microscopy of Grazing by *Poterioochromonas Malhamensis* (chrysophyceae) on a Range of Phytoplankton TAXA1. Journal of Phycology 32: 37–46. DOI: 10.1111/j.0022-3646.1996.00037.x

Zhang Y., Li J., Hu Z. et al. 2022. Transcriptome analysis reveals the algicidal mechanism of *Brevibacillus laterosporus* against *Microcystis aeruginosa* through multiple metabolic pathways. Toxins 14: 492. DOI: 10.3390/toxins14070492

Zhong W., Wang Y., Wang Y. et al. 2025. Mixotrophic flagellate *Ochromonas gloeopara* promotes heterocyst production in cyanobacteria with altered filament length. Harmful Algae 145: 102844. DOI: 10.1016/j.hal.2025.102844

Zhou X., He Y., Li H. et al. 2020. Using flocculation and subsequent biomanipulation to control microcystis blooms: A laboratory study. Harmful Algae 99: 101917. DOI: 10.1016/j.hal.2020.101917

Zhu C., Zhai X., Xi Y. et al. 2019. Progress on the development of floating photobioreactor for microalgae cultivation and its application potential. World Journal of Microbiology and Biotechnology 35: 190. DOI: 10.1007/s11274-019-2767-x

Zou H., Pan G., Chen H. et al. 2006. Removal of cyanobacterial blooms in Taihu Lake using local soils. II. Effective removal of *Microcystis aeruginosa* using local soils and sediments modified by chitosan. Environmental pollution 141: 201–205. DOI: 10.1016/j.envpol.2005.08.042

Zuo S., Wan K., Ma S.M. et al. 2014. Combined allelopathic potential of aquatic plants species to control Algae. Allelopathy Journal 34: 315–324.

Original Article

Mesohalobic diatom species in the freshwater Lake Itkul (Khakassia, Russia)

Makeeva E.G.[1,2], Mikhajlina N.R.[2], Semenova V.V.[2]

[1] *Khakassky State Nature Reserve, Tsukanovoi Str., 164 Abakan, 655017, Russia*
[2] *Katanov Khakassky State University, Lenina Str., 90, Abakan, 655017, Russia*

ABSTRACT. This study presents a list of mesohalobic diatom species found in the freshwater Lake Itkul between 2006 and 2025. The lake is located in the steppe zone of the Republic of Khakassia, within the Bele-Shirinsky endorheic region. We identified 28 species and intraspecific taxa of mesohalobic diatoms belonging to 17 genera. Mesohalobes are typically scarce and play no significant role in the algocenosis; however, their diversity and development intensity in the periphyton are slightly greater than in other communities. The occurrence frequency is provided for each taxon. The most active species in the periphyton in terms of relative occurrence frequency are: *Navicula capitatoradiata* H. Germain ex Gasse (up to 90%), *Mastogloia danseyi* (Thwaites) Thwaites ex W. Smith (up to 53.3%), *M. elliptica* (C. Agardh) Cleve (up to 44.2%), and *Nitzschia denticula* Grunow (up to 69.8%). In 2024–2025, there was a significant increase in the local populations of *Navicula capitatoradiata* and *Mastogloia elliptica* in the epilithon and epiphyton communities. A decrease in lake water levels, caused by the annual rise in air and water temperatures alongside localized salinization of the littoral zones, likely impacts the percentage ratio of salinity indicator groups and the proliferation of mesohalobic species.

Keywords: diatoms, mesohalobic species, freshwater lake, Republic of Khakassia

For citation: Makeeva E.G., Mikhajlina N.R., Semenova V.V. Mesohalobic diatom species in the freshwater Lake Itkul (Khakassia, Russia) // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - P. 372-390. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-372

1. Introduction

Mesohalobes inhabit the brackish coastal waters of seas and estuaries, as well as continental waters with salinity ranging from 5‰ to 20‰ (Barinova et al., 2006). Members of this group rarely predominate in typical freshwater lakes but are identified there as indicators of localized increases in mineralization. Numerous researchers reported on the presence of mesohalobes in diatom assemblages of freshwater ecosystems in Siberia (Popova, 1946; Mitrofanova et al., 2007; Pestryakova and Sleptsova, 2007; Genkal et al., 2011; etc.). Such species are scarce and do not play a significant role in algal communities.

Some freshwater lakes in Khakassia (Southern Siberia), the steppe arid zone, are also characterized by mesohalobic representatives of diatoms in the algal population. Largely, these species are sporadically encountered and have low abundance. However, in recent years, isolated cases of their mass development have been observed in epilithic and epiphytic communities of Lake Itkul, one of the large freshwater lakes in Khakassia.

Diatoms have a high potential as indicators of changes in most habitats, given the known regional relationships between them and the environment (Pestryakova et al., 2018). The bedrock type in a catchment, among other natural influences, determines the water's total mineralization and ionic composition, which are crucial for diatom communities (Ziemann, 1997).

Lake Itkul has low mineralization compared to other lakes in the Shirinsky District of Khakassia because its basin is located mainly in the carbonate deposits of the Beyskaya suite of the Middle Devonian, while mineralized reservoirs, are normally located in the red-colored deposits of the Upper Devonian and Lower Carboniferous (Arkhipova et al., 2014). At the same time, in the soil cover of the lake basin, represented mainly by various ordinary and southern cher-

*Corresponding author. E-mail address: meg77@yandex.ru (E.G. Makeeva)

Received: May 12, 2026;
Accepted after revised: August 10, 2026;
Available online: August 28, 2026

© Author(s) 2026. This work is distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

nozems and meadow soils, there are also solonetzic and solonchak soils (Tanzybaev, 1993).

Climate change significantly impacts salinity levels. This has led to faster salinization, which is apparent in both regional and global trends. However, individual lakes may show high variability in their response to climate change (Stenger-Kovács et al., 2023).

Average annual temperatures (Pozdnyakov, 2025) and precipitation (Nikolayeva and Nikolayev, 2014) have increased in Khakassia, which may lead to changes in the mineralization of water bodies. Researchers indicated a decrease in salinity and a rise in water levels in some lakes of the Shirinsky District of the Republic of Khakassia (Zadereev et al., 2021). However, there is no information on an increase or decrease in the mineralization of Lake Itkul. Without annual data on the lake's mineralization, it is difficult to assess its impact on the algal population. However, we can monitor changes in the lake water level, as a hydrographic post was installed on the reservoir in 2019 at the initiative of the reserve management. Fluctuations in this level affect the composition of algal communities and the balance of ecological groups in relation to various environmental factors, including the level of total mineralization.

On the one hand, mesohalobic algae are reliable indicators of increasing salinity, and their large development signals a rearrangement of the lake ecosystem. Salinization can have a significant impact on the functions and services of ecosystems through biodiversity loss and changes in the composition of aquatic communities, involving the dominance of salt-tolerant species and the spread of invasive species (Stenger-Kovács et al., 2023). In the meantime, mesohalobic species represent only a small part of the diverse algal community in Lake Itkul, which includes 431 species (466 specific and intraspecific taxa). To confirm the impact of climate change, it is important to analyze the seasonal and interannual dynamics of the structural and functional parameters of the lake's entire algal flora and identify the factors that determine their variation within the water body. Investigating the relationships between biocenosis elements and water level conditions enables assessment of likely future trends in ecosystem alteration under given climate changes, involving the lake filling regime (Doganovsky, 2007).

The aim of this study is to identify the species composition of mesohalobic diatoms in the freshwater lake Itkul, the characteristics of their distribution, and occurrence frequency in different biotopes of the lake.

2. Materials and methods

2.1. Study area

Lake Itkul is situated in the Chebakovo-Balakhtinskaya depression area, which is part of the Nazarovo-Minusinsk intermountain valley. It lies within the Bele-Shirinskaya endorheic area, a region of the Iyuso-Shirinskaya Steppe. It is administratively part of the Shirinsky District of the Republic of Khakassia. The waters of Lake Itkul are protected, being included in the Khakassky State Nature Reserve (Fig. 1).

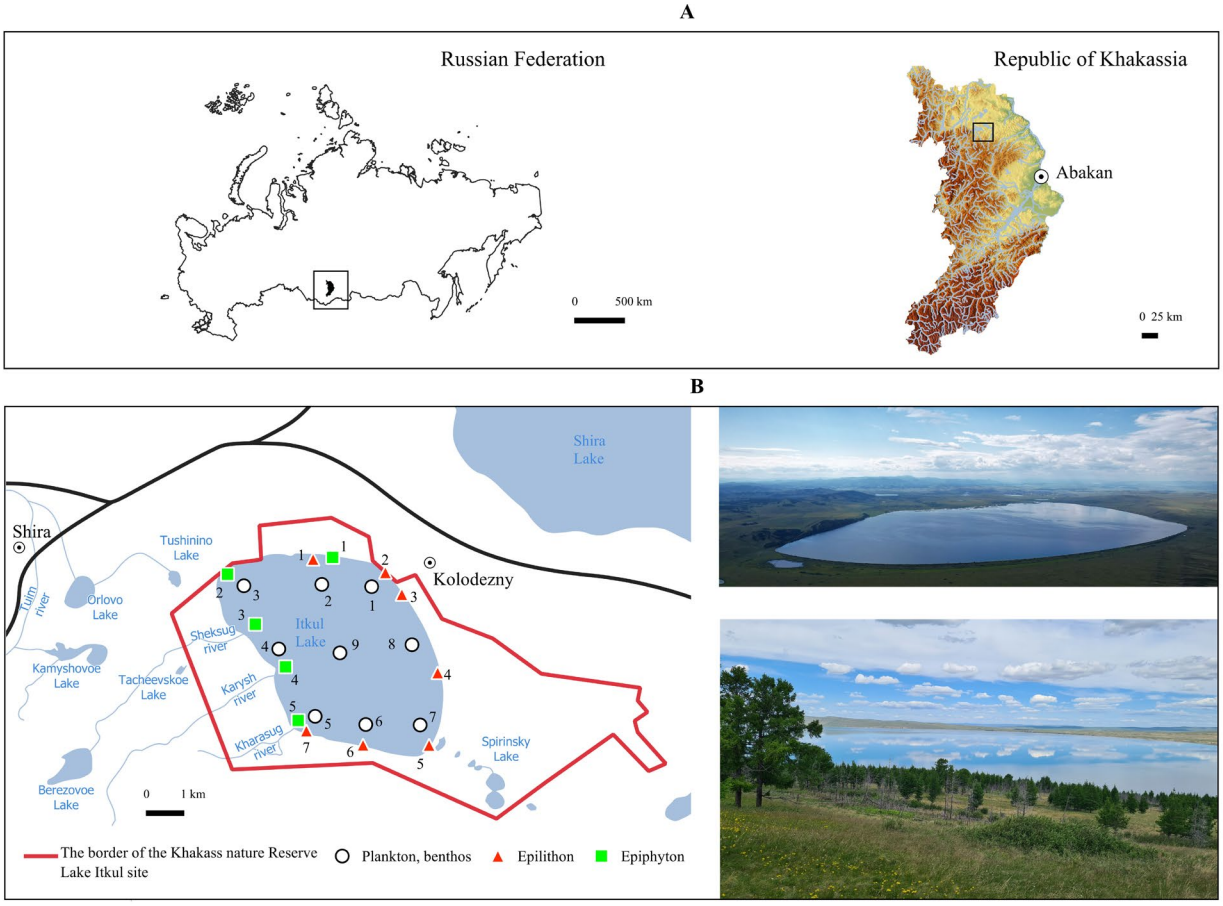


Fig.1. Geographical location of Lake Itkul and sampling stations. A–Location of the lake on the map of the Russian Federation and the Republic of Khakassia; B–Sampling stations.

Mineralized lakes are abundant in the Chebakovo-Balakhtinskaya depression region because its climate is strongly continental and dry (Parnachev and Degermendzhy, 2002). Lake Itkul has a surface area of 23.25 km^2, a maximum depth of 17 m, and an absolute waterline of 456.2 m. Geologically, the lake basin is confined to a large synclinal structure of the same name. Dominant sedimentary formations include gray limestones and marls, along with lesser amounts of calcareous siltstones and sandstones. Swampy conditions prevail on the western and southwestern lake shores, characterized by soddy-sedge and reed marshes in the lowlands. The Karysh River, Kharasuk and Shelsug streams, as well as the small Tushininsky Stream, flow into the lake there (Natural Waters…, 2003). The bottom sediments of Lake Itkul in the lakeside zone are composed of crushed rock, coarse sand, and pebbles. At greater depths, namely over 3 m, fine silts predominate.

The hydrological regime of the lake is subject to periodic fluctuations and depends on the runoff of inflowing rivers and streams, the amount of precipitation, and the influx of underground and groundwater into the basin (Arkhipova et al., 2014). The lake shares a hydrochemical system with the saline Lake Shira, where it serves as a flow-through reservoir for water and dissolved salts. Evaporation has a significantly lesser effect on the hydrochemical balance of Lake Itkul than Lake Shira; there is a higher intensity of water exchange in Lake Itkul (Guseva and Savichev, 2016).

The lake waters are classified as sodium-magnesium hydrocarbonate water (Guseva and Savichev, 2016), with a pH of 8.6–9.0. Water mineralization was 0.68 g/L in 1904, 0.69 g/L in 1989 and 1995 (Natural waters…, 2003), and 0.55 g/L in 2015. The lake waters contain 293 mg/L of hydrocarbonates, 12.2 mg/L of carbonates, 76.0 mg/L of sulfates, and 32.0 mg/L of chlorides (Guseva and Savichev, 2016). In 2019, dry residue amounted to 0.4 g/L, including 231.8 mg/L of hydrocarbonates, 67.2 mg/L of sulfates, 35.0 mg/L of chlorides, and 36.0 mg/L of carbonates (Zadereev et al., 2021).

2.2. Sample collection and analysis

The species composition of planktonic, benthic, and periphytic algae in Lake Itkul was investigated from 2006 to 2009. Thereinafter, phytoplankton was studied annually. Epilithic diatom communities were analyzed from 2023 to 2025, and reed diatom epiphyton was analyzed in 2024–2025.

From 2006 to 2009, samples were collected at nine stations in the central and littoral zones of the lake (Fig. 1). Phytoplankton samples were taken from the pelagic part of the lake, 0.5 to 0.1 m from the surface, using a Ruttner bathometer and an Apstein's net (mesh size 64 μm). Benthic samples were collected by lot or by scooping into a bottle from different depths. Phytoepiphyton samples with *Phragmites australis* (Cav.) Trin ex Steud were collected from 2003 to 2025 at five stations along the northern, southern, and western shores of Lake Itkul. Submerged reed stems (3–5 stems) were cut, and the fouling was scraped off using a scalpel into a container. Phytoepilithon samples were collected from 2022 to 2025 at seven stations along the northern, eastern, and southern shores of the lake at depths of 0–1 m. All biological material was rinsed and scraped from the rocks using distilled water, a scalpel, and a toothbrush. At each station, composite samples were obtained from ten rocks. Samples were preserved with 40% formaldehyde.

To prepare permanent specimens, we used a method of burning samples with a mixture of concentrated sulfuric acid and potassium dichromate; in recent years (2024–2025), we used hydrogen peroxide, and specimens were prepared using Elyashev medium. Determination was carried out using an Olympus CX41 light microscope, taking into account the relative abundance according to the Starmach scale (Algae..., 1989); dominant and co-dominant species were identified, corresponding to 5 and 4 points on the scale, respectively. The relative taxon occurrence (activity) frequency was calculated as a percentage of the total number of samples (Devyatkin and Mitropolskaya, 2002) for all identified species of various algal divisions and all communities in 2006–2009, and only for diatoms, separately in epilithon and epiphyton–in subsequent periods (2023–2025). The dominance frequency was calculated as the percentage of samples in which the species abundance was 4 or 5 points relative to the total number of epilithon or epiphyton samples.

The names and systematic affiliation of taxa were given according to AlgaeBase (Guiry and Guiry, 2026); the ecological characteristics of diatoms were assessed according to the database of ecological indicators of freshwater algae and cyanobacteria (Barinova, 2025).

The graphs of the interannual distribution of precipitation and average air temperature were constructed using data from the Khakassia Center for Hydrometeorology and Environmental Monitoring, a branch of the Central Siberian Hydrometeorological Center (Shira weather station). The diagrams of the water level and temperature of Lake Itkul were based on data from the hydrographic station on Lake Itkul during the open-water period.

3. Results

The lake diatoms are characterized by high species richness and include 301 species (324 specific and infraspecific taxa) belonging to 3 classes, 14 orders, 30 families, and 71 genera. The diatom community of Lake Itkul is predominantly freshwater, with a large contribution of brackish-water species; mesohalobes and euryhaline species are less common (Fig. 2).

In terms of water salinity, the lake is dominated by indifferent species, which amount to 62.3% of the total number of species, and intraspecific taxa, as well as by halophiles (12.3%). Halophobes account for 8.95% of the taxonomic diversity of diatoms; euryhaline diatoms amount to 0.3% (*Opephora mutabilis* Sabbe & Wyverman). Twenty-seven species (28 specific and infraspecific taxa) were identified in the lake as mesohalobes (8.6%), including the following species:

Ctenophora pulchella (Kützing) D.M. Williams & Round, found in the fouling of reeds and stones in 2006–2009 (occurrence 0.9%);

Tabularia tabulata (C. Agardh) Snoeijs, found in coastal plankton in 2006–2009 (occurrence 0.9%);

Anomoeoneis costata (Kützing) Hustedt, found in reed foliage in September 2025 (0.9% occurrence). The species may have been introduced by birds during autumn migration from the nearby Lake Shira;

Anomoeoneis sphaerophora Pfitzer, found in lakeside plankton and in the silt in the middle of the lake in 2006–2009 (occurrence 1.8%). In August 2025, the species was found on reeds near the mouth of the Karysh River on the western shore (occurrence 2.3% from June to September);

Gomphonema salinarum (Pantosek) Cleve, found in stone fouling in 2006–2009 (occurrence 0.9%) in the southwestern part of the lake;

Navicymbula pusilla (Grunow) Krammer, found in lakeside plankton and silt (west coast) in 2006–2009 (occurrence 2.8%);

Navicula capitatoradiata H. Germain ex Gasse is the most widespread species, found in all communities except for soils with an admixture of clay and the *Chara tomentosa* fouling. Between 2006 and 2009, its occurrence across all communities was 16.5%, and 49% in periphyton. In 2024–2025, its occurrence in epilithon was 47.5–86.6%; in epiphyton, it was 50–62.8%; data were obtained from June to September. In August 2025, its occurrence was 90.0%. In 2024, it occurred as a codominant in the epilithon on the eastern shore of the lake in September; while in July, it predominated in the reed epiphyton on the western shore. From May to September, the species was found throughout the entire water area;

Navicula kefvingensis (Ehrenberg) Kützing, found in the silt of the western shore in the fouling of Crested pondweed in 2006–2009 (occurrence 1.8%);

Prestauroneis crucicula (W. Smith) Genkal & Yarushina, found in silt, in the middle of the lake, on sandy ground, and in lakeside plankton in 2006–2009 (occurrence 1.8%); in July 2025, it was found in reed periphyton (occurrence from June to September was 2.3%);

Prestauroneis protracta (Grunow) Kulikovskiy & Glushchenko, found on sandy-silty soil in 2006 (0.9% occurrence). In 2025, it was found in the stone fouling in July (2.5% occurrence) on the eastern shore of the lake;

Craticula halophila (Grunow) D.G. Mann, found in lakeside plankton, on rocks, in the fouling of Crested pondweed, Shining pondweed, and *Chara tomentosa* in 2006–2009 (occurrence 1.8%); in 2025, it was found in epilithon in August (occurrence 2.5%) and in reed periphyton (occurrence 9.3%) from June to September, most active in August (20%);

Craticula halophila var. *subcapitata* (Østrup) Czarnecki, found in the fouling of reed and *Chara tomentosa* in 2006–2009 (occurrence 1.8%);

Mastogloia braunii Grunow, found in lakeside plankton, in the fouling of reed and Amphibian knotweed, and on rocks in 2006–2009 (occurrence rate 5.5% for all communities). In 2023–2025, it was found in the epilithon of the southern shore (occurrence rate over the entire study period from May to September was 7.7%; in August, it was 14.3–28.6%);

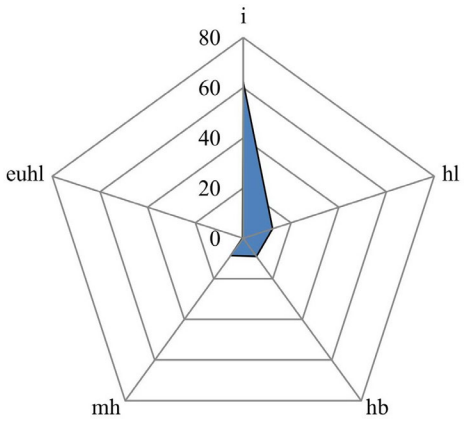


Fig.2. Distribution of diatoms–indicators of water salinity in Lake Itkul, % (i–indifferent species; hl–halophiles, hb–halophobes, mh–mesohalobes, and euhl–euryhaline).

Mastogloia danseyi (Thwaites) Thwaites ex W. Smith, found in 2006–2009 in lakeside plankton, western shore silt, sandy-silty soil, reeds, Shining pondweed, *Chara*, and stones (occurrence 16.5% for all communities). Its rates in epilithon were 7.7% in 2023, 53.3% in 2024, and 30% in 2025. The species was most active in August near the southern shore of the lake. Occurrence in reed epiphyton was 34.9%, also more active in August;

Mastogloia elliptica (C. Agardh) Cleve, found in lakeside plankton, silt from the middle of the lake, on sandy, sandy-pebbly bottom, reeds, stones in 2006–2009 (occurrence of 0.9% for all communities). In the epiphyton, the occurrence of the species was 23.1% in 2023, 26.6% in 2024, and 25.0% in 2025. During each of the recent years, high activity of the species has been recorded in August; particularly in August 2025, the species dominated near the southern shore. In 2024–2025, the species was found in 41.7–44.2% of samples in the reed epiphyton. High activity of the species is characteristic of August;

Mastogloia smithii Thwaites ex W. Smith, found in all communities except for the silt from the middle of the lake, soils mixed with clay, and sand. Previously, in 2006–2009, its occurrence in all communities was 31.2%; notably, in plankton it was 18.0–28.0%. In 2023–2025, the species was found in 7.7–22.5% of epilithon samples with peak activity in August;

Achnanthidium biasolettianum (Grunow) Lange-Bertalot, found in epilithon between 2006 and 2009 (occurrence 0.9%);

Crenotia gibberula (Grunow) Wojtal, found previously in lakeside plankton, silt of the western shore, in the fouling of stones and macrophytes (occurrence 1.9%) in 2006–2009;

Crenotia thermalis (Rabenhorst) Wojtal, found only in lakeside plankton in 2006–2009 (0.9% occurrence);

Halamphora coffeiformis (C. Agardh) Mereschkowsky, found in lakeside plankton, silt from the middle of the lake, and on Crested pondweed in the western part of the lake between 2006 and 2009 (24.6% occurrence). In recent years, the species has not been detected in plankton or in the fouling of rocks and reeds;

Halamphora perpusilla (Grunow) Q.-M. You & Kociolek, found only in sediments in 2006–2009, namely, in silt from the middle of the lake, sandy-silty, and sandy-pebbly sediments (7.3% occurrence). Benthic composition was not studied between 2010 and 2025;

Amphora affinis Kützing, found on reeds in July 2024 on the western shore (8.33% occurrence);

Rhopalodia gibberula (Ehrenberg) O. Müller, found in 2006–2009 in lakeside plankton and silt, and in fouling (18.3% occurrence). In recent years, sporadic occurrences have been recorded from May to September in epilithon. Occurrence was 7.7% in 2023, 26.6% in 2024, and 2.5% in 2025;

Nitzschia commutata Grunow, found only on sandy bottoms with sporadic occurrences in 2006–2009 (0.9% occurrence);

Nitzschia denticula Grunow, found in 2006–2009 in lakeside plankton, on sand, rocks, sandy-silty soil, reeds, pondweed, and chare (occurrence rate 11.9%). Occurrence in epiphyton was 7.7% in 2023, 13.3% in 2024, and 25.0% in 2025. Occurrence in reed epiphyton in 2024–2025 ranged from 50.0 to 69.8%, with the species being more active in August;

Tryblionella apiculata W. Gregory, found on reeds in August–September 2025, occurrence rate of 10.0–11.1%;

Tryblionella hungarica (Grunow) Frenguelli, found from 2006 to 2009 on sandy-pebble soil (0.9% occurrence);

Surirella ovalis Brébisson, found from 2006 to 2009 on reeds in the western part of the lake (0.9% occurrence); in recent years, it has also been found on reeds (2.3% occurrence).

Species recorded in the plankton were characteristic mainly of samples collected with Apstein's net. Quantitative samples contained only *Navicula capitatoradiata* ($0.5–1.63 \times 10^3$ cells/L) and *Crenotia gibberula* ($0.2–0.5 \times 10^3$ cells/L). Most mesohalobic species were found in the benthos and periphyton.

The most important natural feature of the lakes in the steppe zone of Khakassia is the cyclical fluctuation in water levels caused by variability in overall moisture content. Precipitation has a direct and significant impact on the dynamics of lake mineralization. Increased precipitation typically leads to a decrease in mineralization due to water dilution, while a reduction in precipitation enhances salt concentrations, especially in endorheic reservoirs. The distribution of annual precipitation totals, according to data from the Shira meteorological station, is shown in Fig. 3A. Over the past decade (2016–2025), annual precipitation has increased by 44.9 mm compared to the 2006–2015 period.

A potential reason for the development of mesohalobic algae is a gradual increase in annual atmospheric air temperature. This factor affects the course of physicochemical processes and is typically reflected in the chemical composition of natural waters (Drovovozova

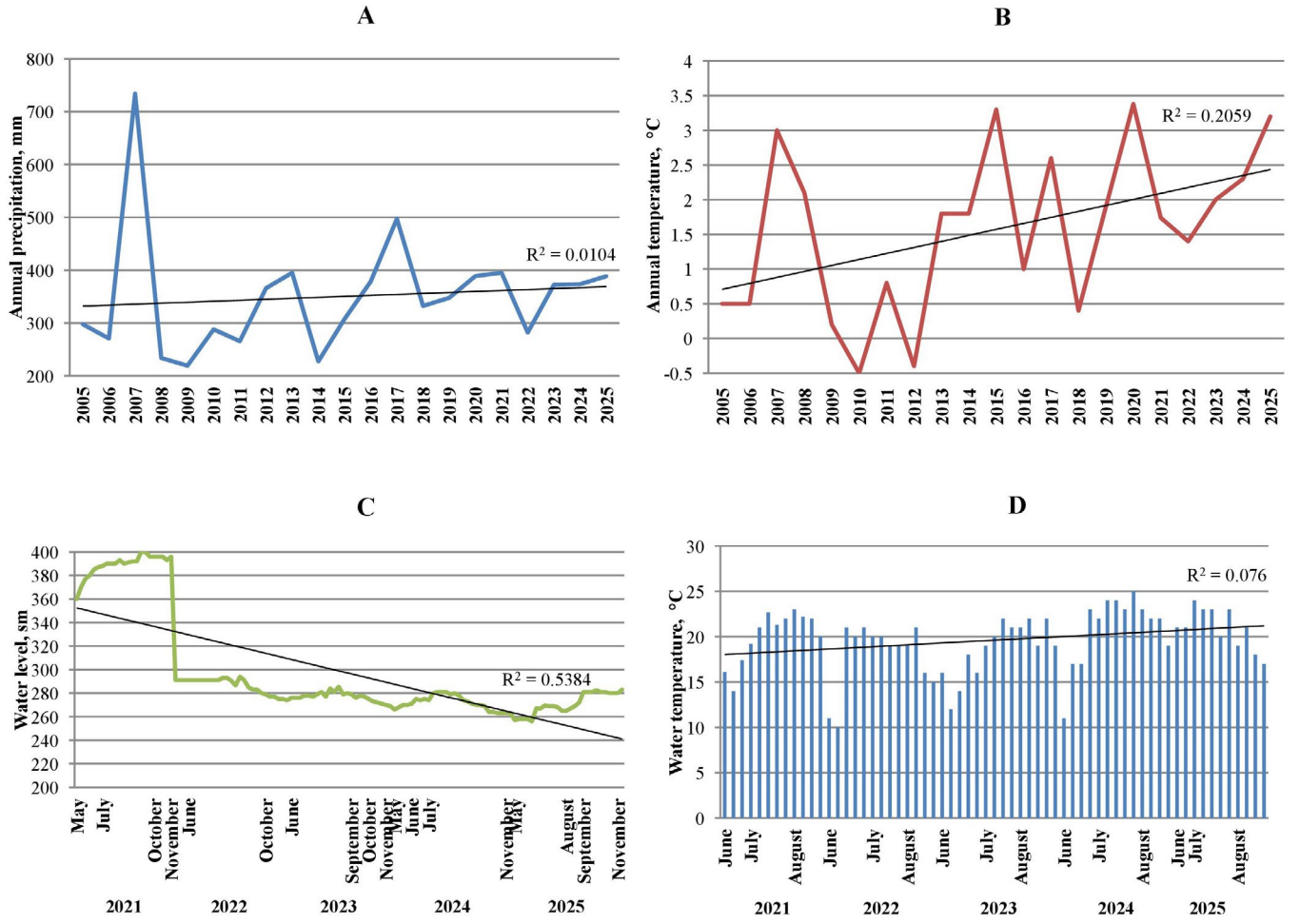


Fig.3. Weather conditions in the study area and hydrological characteristics of Lake Itkul. A–change in annual precipitation according to the Shira weather station; B–change in average annual air temperature according to the Shira weather station; C–water level in Lake Itkul; D–water temperature in Lake Itkul.

and Kirilenko, 2021). Analysis of long-term observation data at the Shira meteorological station demonstrates an increase in average annual air temperature over the past 20 years (Fig. 3B). Moreover, from 2022 to 2025, the lake water level decreased, and the temperature increased (Fig. 3C, D).

Rising air temperatures can lead to higher evaporation rates, especially in shallow water. This can cause localized salinization, which affects the composition of epilithic and epiphytic communities. Additionally, increased precipitation can cause salts to leach from saline soils in the lakeside zone, potentially increasing the influx of salts into the lake through surface runoff.

4. Discussion

During the observation period from 1934 to 2025, the species composition and the development degree of mesohalobic species in the lake underwent certain changes. All species discovered by T.G. Popova (1946) in 1934 during the investigation of Lake Itkul were found in our samples taken during the 2006–2009 period: *Ctenophora pulchella, Achnanthidium biasolettianum, Anomoeoneis sphaerophora, Prestauroneis crucicula, P. protracta, Craticula halophila, C. halophila* var. *subcapitata, Navicymbula pusilla, Nitzschia denticula,* and *Tryblionella hungarica*. However, from the genus *Mastogloia*, only *M. lacustris* (Grunow) Grunow halophile was included in the species list, which currently dominates the periphyton and occurs with high frequency. By 2025, six species of the genus *Mastogloia* have been identified in the lake, including typical representatives of the lake mesohalobe complex: *M. braunii, M. danseyi, M. elliptica*, and *M. smithii*. In addition to the abovementioned species, the following ones were also present in samples throughout the study period since 2006: *Navicula capitatoradiata, Nitzschia denticula, Rhopalodia gibberula, Anomoeoneis sphaerophora, Craticula halophila, Prestauroneis crucicula, P. protracta*, and *Surirella ovalis*.

Some species identified in the 2006–2009 period have not been found in recent years, possibly due to the absence of benthic samples. These include *Halamphora perpusilla, H. coffeiformis, Tabularia tabulata, Gomphonema salinarum*, and others.

In 2024–2025, new and inactive species appeared in the reed epiphyton of the lake, namely *Anomoeoneis costata, Amphora affinis*, and *Tryblionella apiculata*.

Our study involved assessing the distribution of mesohalobic diatoms in algal communities. Fifteen species and intraspecific taxa of mesohalobic diatoms belonging to the genera *Tabularia, Mastogloia, Navicymbula, Crenotia, Craticula, Halamphora*, and *Rhopalodia* were identified in the lake plankton. They were encountered sporadically, not every year, and in isolated numbers.

Overall, 18 mesohalobic species were present in the bottom sediments. Most of them were found in the silt along the western shore: *Navicymbula pusilla, Navicula kefvingensis, Mastogloia danseyi, M. smithii*, etc. In the silt of the central part of the lake, the following species were identified: *Anomoeoneis sphaerophora, Prestauroneis crucicula, Halamphora coffeiformis*, etc. As a rule, they showed a low occurrence frequency (up to 2.7%) in the structure of benthic cenoses, except for several species, which were found rather frequently: *Mastogloia danseyi* (27.7%), *M. smithii* (25.0%), *Navicula capitatoradiata*, and *Halamphora perpusilla* (22.0%).

The diversity and intensity of development of mesohalobic diatoms in the periphyton were slightly greater than in other communities. In particular, 23 species and intraspecific taxa were found here. Recently, a large development has been recorded for the species *Mastogloia,* which predominated in the stone fouling in 2025 (station 7), and *Navicula capitatoradiata,* which codominated in the epilithon in September (station 3) and prevailed in the epiphyton at one of the stations in July 2024 (station 3). The dominance of these species was localized in certain areas of the water body. The dominance frequency of *Navicula capitatoradiata* amounted to 7.7% in the epiphyton and 6.7% in the epilithon; for *Mastogloia elliptica*, it was 2.5% in the epiphyton. In August 2025, there was a relatively high occurrence of the species *Navicula capitatoradiata* (90.0%, epiphyton), *Nitzschia denticula* (80.0%, epiphyton), *Mastogloia danseyi* (55.6%, epiphyton), *M. smithii* (71.4%, epilithon), and *M. elliptica* (70.0%, epiphyton and 57.1%, epilithon) in epilithic and epiphytic communities.

The investigation of the spatial distribution revealed a higher diversity of mesohalobic forms in the reed periphyton from the middle part of the western shore of the lake (stations 3, 4). Seven species were found at each of these stations: *Mastogloia danseyi, M. elliptica, Anomoeoneis sphaerophora, Prestauroneis crucicula, Navicula capitatoradiata, Nitzschia denticula,* and *Tryblionella apiculata*. In the epilithon, it was associated with the southern and southwestern shores (stations 6, 7) and also included seven species: *Navicula capitatoradiata, Mastogloia braunii, M. danseyi, M. elliptica, M. smithii, Rhopalodia gibberula,* and *Nitzschia denticula*. In temporal dynamics, the peak of species diversity and quantitative development occurred in August 2025.

According to the characterization by Popova (1946), the flora of Lake Itkul is a freshwater-saltwater one, dominated by indifferent and euryhaline species in the plankton and benthos, with a sporadic appearance of halophiles or mesohalobes. The author observed the abundance of halophiles on the western shore, where they thrived at the mouths of some streams. Our findings confirm these observations. In addition to the development of halophilic and mesohalobic forms of diatoms along the marshy western shore, this section of the water body was characterized by a low abundance of desmids, most of which prefer waters with low salt concentrations. The presence of halophilic macrophytes may also indicate high water mineralization in some lakeside areas. For example, Volobaev (1992) reported on the rather unusual occurrence of *Ruppia maritima* L. in Lake Itkul because the species is an obligate halophyte.

The occurrence of mesohalobes in the reed fouling at the confluence of the Karysh River is noteworthy, since there is no data on the high salinity of the river

itself, and the mineralization of the waters is 357–446 mg/L (Kopylova et al., 2005). However, Popova (1946) observed halophiles and mesohalobes, along with purely freshwater forms, in the benthos of the watercourse associated with Lake Itkul, indicating significant salinization of the silt.

Members of the genus *Mastogloia* are among the most common diatoms in Lake Itkul. Most taxa of this genus inhabit marine environments, with only a small number inhabiting freshwater ecosystems. They prefer submerged plants, rocks, and bottom sediments as substrates; they thrive in a wide variety of freshwater habitats, including streams, rivers, lakes, ponds, sphagnum bogs, and others. The species *Mastogloia dansei* and *M. elliptica*, inherent in Lake Itkul, were found in significant quantities in swamps, small rivers, and mineral springs of Macedonia among the inhabitants of epiphyton and epilithon (Pavlov et al., 2016). *Mastogloia braunii, M. elliptica*, and *M. smithii* were detected in freshwater lakes of the Chelyabinsk Oblast (Yarushina et al., 2004).

Many researchers indicated mesohalobic diatoms in freshwater bodies and streams. These species typically comprise <3% of the total number of identified halobic indicators. In lakes of the eastern Bolshezemelskaya Tundra, as well as in the Ural water bodies, mesohalobes are rare, mostly with low abundance rates and a different composition. Species similar to those found in Lake Itkul include *Navicula kefvingensis, Navicymbula pusilla*, and *Halamphora perpusilla* (Stenina, 2009), as well as *Ctenophora pulchella*, and *Anomoeoneis sphaerophora* (Genkal and Eremkina, 2023). The phytoplankton of Lake Onega, similar to that of Lake Itkul, contains *Achnanthidium biasolettianum, Navicymbula pusilla, Craticula halophila* var. *subcapitata, Rhopalodia gibberula*, and others (Chekryzheva, 2012).

For plankton communities of lakes and rivers associated with the Irtysh River in the Omsk Oblast, the following species are typical: *Tabularia tabulata, Ctenophora pulchella, Navicula kefvingensis, Nitzschia denticula, Surirella ovalis, Tryblionella apiculata,* and *Halamphora coffeiformis* (Phytoplankton…, 2019).

Navicula capitatoradiata, *Tryblionella hungarica*, etc., were observed among the indicators of high water mineralization in the benthic algal communities of the Oka River estuary (Khedairia et al., 2022). Single specimens of mesohalobic diatom species, including *Navicula capitatoradiata* and *Tabularia tabulata*, were found in the rivers of the Amur region (Medvedeva, 2023). Mesohalobic species *Ctenophora pulchella*, *Tabularia tabulata*, *Navicula capitatoradiata*, *Tryblionella hungarica*, *Nitzschia denticula*, etc., were recorded in lakes and rivers of the Kerzhensky Nature Reserve (Volga River basin) (Vodeneeva et al., 2022).

In lakes of nearby regions, the species composition of mesohalobes shows greater similarity with Lake Itkul. For instance, *Navicula capitatoradiata, N. kefvingensis, Tabularia tabulata, Ctenophora pulchella, Prestauroneis protracta, Crenotia thermalis, Navicymbula pusilla, Halamphora coffeiformis, H. perpusilla, Nitzschia commutata, N. denticula,* and *Surirella ovalis* were detected in the plankton and bottom sediments of Lake Teletskoye (Altai Republic) (Mitrofanova et al., 2007). Most mesohalobe species in Lake Itkul (85.7%) are common to freshwater lake ecosystems of Mongolia, especially to the bottom sediments of Lakes Buir and Achit (Dorofeyuk and Tsetsegmaa, 2002). In Lake Achit, a flowing body freshwater, the number of halophilic diatom species is 11%, and mesohalophilic ones are 4%, including *Mastogloia braunii, M. danseyi, M. smithii,* and *Anomoeoneis costata*, etc., which is not accidental, since the lake is located in an area of low-mountain desert steppes, and saline soils are located along the shores (Dorofeyuk, 1985). Meanwhile, in the freshwater lake Nogaan-Khol (Tuva Republic), only one species was found, namely *Ctenophora pulchella* (Naumenko and Nazyn, 2023), and in the large freshwater lake Azas in Tuva, mesohalobes were not found at all (Naumenko and Nazyn, 2024).

Mesohalobic diatoms were also identified in other freshwater lakes in the Shirinsky District of Khakassia. In particular, *Mastogloia danseyi, Anomoeoneis costata,* and *Nitzschia denticula* were detected in Lakes Chernoe and Fyrkal; *Anomoeoneis sphaerophora, Craticula halophila, C. halophila* var. *subcapitata,* and *Navicymbula pusilla*–in Lake Chernoe; and *Navicula capitatoradiata*–in Lake Fyrkal (Popova, 1946). In Lake Tushinino (Tukhloe), situated near Lake Itkul, *Nitzschia denticula* was reported among the common species, while *Anomoeoneis sphaerophora* and *Craticula halophila* var. *subcapitata* were rarely and singly identified; *Navicula capitatoraradiata, Mastogloia smithii,* and *Nitzschia denticula* were detected in Lake Orlovo (Popova, 1946).

Data on the ecology of some mesohalobic species are contradictory. Some algologists classify species such as *Navicymbula pusilla, Crenotia gibberula, Anomoeoneis sphaerophora, Navicula capitatoradiata, Halamphora perpusilla*, etc., as halophilic or indifferent to salinity (Stenina, 2009; Gorbulin, 2016; etc.).

The development of mesohalobic algae in Lake Itkul is most likely driven by a localized increase in water mineralization in the coastal region, which does not extend to the entire lake ecosystem. According to Savichev et al. (2015), Lake Itkul is characterized by intensive water exchange, which mitigates the effect of salt concentration in the lake waters during evaporation from the water body in June and July. Compared to Lake Shira, it experiences a shorter period of interaction between lake water and bottom sediments. Hence, the intensity of the water balance determines the differences in mineralization and chemical composition of the lake waters (Guseva and Savichev, 2016).

The influence of more mineralized groundwater is also possible, since in the steppe part of the Shirinsky District, it is characterized by increased mineralization (Pokrovskiy et al., 2001).

Natural causes of water salinization may include climate change combined with increased evaporation and low precipitation, as well as the lack or limitation of inflow or runoff (Zimmermann-Timm, 2007). In the studied case, we observe not only an increase in the annual temperatures of air and surface water of the lake but also a slight increase in annual precipitation. Any change in annual temperature fluctuations has a

significant impact on the thawing and freezing regimes of soils and rocks, thereby affecting the recharge conditions of surface and groundwater. With increasing temperature, the salt dissolution rate in natural solutions increases (Drovovozova and Kirilenko, 2021). Diatoms, in turn, respond to changes in salt concentration, even at chloride concentrations of only 100 mg per L (Zimmermann-Timm, 2007).

Long-term fluctuations in water levels cause changes in the habitats of biocenoses that vary in duration, since they are accompanied by alterations in the size of shallow waters, depth, mineralization, the number of phosphates from the catchment area, water heating conditions, and the duration of the growing season (Doganovsky, 2007). Perhaps this factor influences the changes in the composition of diatom groups associated with the water salinity of Lake Itkul. Following the period of maximum water level in 2021, according to the 2019–2025 hydrographic post data, in 2023, the number of halophobes increased by 8.9% in the lake epilithon, and the number of halophiles and mesohalobes decreased by 5.4 and 2.8%, respectively, when compared with the ecological spectra of this community between 2006 and 2009 (Makeeva and Mikhajlina, 2024). On the contrary, in 2024–2025, the number of halophilic organisms increased by 9.5–12.1%, and that of mesohalobes–by 1.1%, while the number of halophobic species decreased by 7.1–7.9%. Similar dynamics were observed in reed fouling in 2025. A significant number of halophilic and mesohalobic species in the composition of salinity indicators may also be stipulated by the fact that the shore-forming soils are saline, which provides an increase in water mineralization upon the decrease in the water level.

5. Conclusion

Mesohalobic diatom species were detected in phytoplankton, phytobenthos, and phytoperiphyton throughout Lake Itkul, but were typically concentrated along the western and southwestern shores of the lake where the number of abundant or frequently occurring species was small. Periphyton communities were the richest in mesohalobes. In some areas of the littoral zone, there were outbreaks of mesohalobic growth in the epilithon and epiphyton, but these species had a low dominance frequency. The development of most salt-loving species was confined to late summer (August).

In the littoral zone of Lake Itkul, the algal community is more ecologically diverse, with greater numbers of mesohalobes, suggesting localized salinization of these areas. Discrepancies in diatom species composition in different habitats and seasonal changes in diatom assemblages indirectly indicate spatiotemporal diversity in diatom habitats in Lake Itkul.

The results of this study, aimed at identifying the habitats and occurrence of mesohalobic species, can complement and expand our understanding of the floristic distribution patterns of these organisms and their halotolerance. Further detailed study of diatom development, including an analysis of their ecological spectra depending on water level regimes and climate dynamics, will facilitate their successful use as accurate indicators of environmental change.

Conflict of interest

The authors declare no conflicts of interest.

References

Algae: Reference Book. 1989. In: Vasser S.P. (Ed.). Kiev: Naukova Dumka. (in Russian)

Arkhipova N.V., Makarenko N.A., Parnachev V.P. et al. 2014. Ecogeochemical features of soil and bottom sediments of the cluster area “Lake Itkul” in the state natural reserve “Khakassky”. Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta [Tomsk State University Journal] 386: 193–200. (in Russian)

Barinova S. 2025. Database of Ecological Indicators of Freshwater Algae and Cyanobacteria. Ecology and Diversity 2 (2): 10003. DOI: 10.70322/ecoldivers.2025.10003

Barinova S.S., Medvedeva L.A., Anissimova O.V. 2006. Diversity of algal indicators in environmental assessment. Tel-Aviv: PiliesStudio. (in Russian)

Chekryzheva T.A. 2012. Taxonomic and ecological characteristics of phytoplankton in Lake Onega. Trudy Karel’skogo nauchnogo tsentra RAN [Transactions of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences] 1: 56–69. (in Russian)

Devyatkin V.G., Mitropolskaya I.V. 2002. The occurrence of algal species as an indicator of biological diversity of algocenoses. In: Papchenkova V.G. (Ed.), Dynamics of diversity of hydrobionts in the inland waters of Russia. Yaroslavl: YSTU, pp. 5–22. (in Russian)

Doganovsky A.M. 2007. The level regime of lakes is an integral indicator of climatic and environmental changes. Obshchestvo. Sreda. Razvitie (Terra Humana) [Society. Environment. Development (Terra Humana)] 1 (2): 103–110. (in Russian)

Dorofeyuk N.I. 1985. Bacillariophyta depositus bentich lacus Aczit (Mongolia). Novosti sistematiki nizshikh rastenii [Novitates systematicae planetarium non vascularium] 22: 37–46. (in Russian)

Dorofeyuk N.I., Tsetsegmaa D. 2002. Conspectus of Algae Flora of Mongolia. In: Ulziikhutag N., Gunin P.D. (Eds.). Moscow: Nauka. (in Russian)

Drovovozova T.I., Kirilenko A.A. 2021. Meteorological factors impact on the quality of natural water facilities on the territory of the Bagaevskaya irrigation system. Ekologiya i vodnoe khozyaistvo [Ecology and Water Management] 3 (4): 1–13. DOI: 10.31774/2658-7890-2021-3-4-1-13 (in Russian)

Genkal S.I., Bondarenko N.A., Shchur L.A. 2011. Diatom algae of lakes in southern and northern Eastern Siberia. Rybinsk: Rybinskii Dom Pechati. (in Russian)

Genkal S.I., Eremkina T.V. 2023. Diatom Algae of Different Types of Middle Ural Reservoirs (Sverdlovsk Region, Russia). Biologiya vnutrennikh vod [Inland Water Biology] 3: 291–300. DOI: 10.31857/S0320965223030087 (in Russian)

Gorbulin O.S. 2016. Species diversity and autecology of Bacillariophyta of continental water bodies of Ukraine. Fitoraznoobrazie Vostochnoi Evropy [Phytodiversity of Eastern Europe] 10 (2): 33–95. (in Russian)

Guiry M.D., Guiry G.M. 2026. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. URL: https://www.algaebase.org (accessed: 26.03.2026).

Guseva N.V., Savichev O.G. 2016. Hydrochemical balance of Itkul–Shira lake system (Khakassia, Russian Federation). Sibirskii ekologicheskii zhurnal [Siberian Journal of Ecology] 5: 718–728. DOI: 10.15372/SEJ20160509 (in Russian)

Khedairia T., Okhapkin A.G., Genkal S.I. et al. 2022. Composition and Ecological Characteristics of Diatoms of Algocenoses in the Benthal of the Mouth of a Large Eutrophic-Hypertrophic River (Oka River, Russia). Biologiya vnutrennikh vod [Inland Water Biology] 4: 372–380. DOI: 10.31857/S032096522204012X (in Russian)

Kopylova Yu.G., Dutova E.M., Vasiliev B.D. et al. 2005. Guide to natural waters of the training ground for geological practices in Northern Khakassia. Tomsk: TPU Publishing House. (in Russian)

Makeeva E.G., Mikhajlina N.R. 2024. Taxonomic diversity of diatoms of the epilithon of Lake Itkul (Republic of Khakassia). Problemy botaniki Yuzhnoi Sibiri i Mongolii [Problems of botany of South Siberia and Mongolia] 23 (2): 227–230. DOI: 10.14258/pbssm.2024095 (in Russian)

Medvedeva L.A. 2023. Ecological and geographical characteristics of the diatom algal flora in the Zeya river basin (Amur region). Botanicheskii zhurnal [Botanical journal] 108 (6): 547–565. DOI: 10.31857/S0006813623060054 (in Russian)

Mitrofanova E.Yu., Skabitchevskaya N.A., Kim G.V. et al. 2007. Diatom flora of Lake Teletskoye (Altai, Russia). Novosti sistematiki nizshikh rastenii [Novitates systematicae planetarium non vascularium] 41: 41–59. DOI: 10.31111/nsnr/2007.41.41 (in Russian)

Natural waters of Shira District of the Republic of Khakassia. 2003. In: Parnachev V.P. (Ed.). Tomsk: Tomsk State University. (in Russian)

Naumenko Yu.V., Nazyn Ch.D. 2023. Algae Mineral source Nogaan-Khol (Tyva, Russia). Rastitel'nyi mir Aziatskoi Rossii [Flora and Vegetation of Asian Russia] 16 (4): 342–348. DOI: 10.15372/RMAR20230404 (in Russian)

Naumenko Yu.V., Nazyn Ch.D. 2024. Characteristics of algae in lake Azas (Republic of Tyva, Russia). Sibirskii ekologicheskii zhurnal [Siberian Journal of Ecology] 4: 604–611. DOI: 10.15372/SEJ20240407 (in Russian)

Nikolayeva Z.N., Nikolayev A.V. 2014. Atmospheric precipitation volume change peculiarities on the agricultural territory of the Republic of Khakassia. Vestnik Khakasskogo gosudarstvennogo universiteta im. N.F. Katanova [Bulletin of the Katanov Khakass State University] 10: 43–45. (in Russian)

Parnachev V.P., Degermendzhy A.G. 2002. Geographical, geological and hydrochemical distribution of saline lakes in Khakasia, Southern Siberia. Aquatic Ecology 36: 107–122. DOI: 10.1023/A:1015670130522

Pavlov P., Jovanovska J., Wetzel C.E. et al. 2016. Freshwater *Mastogloia* (Bacillariophyceae) taxa from Macedonia, with a description of the epizoic *M. sterijovskii* sp. nov. Diatom Research 31 (2): 85–112. DOI: 10.1080/0269249X.2016.1157376

Pestryakova L.A., Herzschuh U., Gorodnichev R. et al. 2018. The sensitivity of diatom taxa from Yakutian lakes (north-eastern Siberia) to electrical conductivity and other environmental variables. Polar Research 37: 1485625. DOI: 10.1080/17518369.2018.1485625

Pestryakova L.A., Sleptsova L.S. 2007. Diatomic flora of lakes of Yakutia. Vestnik YaGU [Bulletin of YSU] 4 (1): 17–22. (in Russian)

Phytoplankton of the Omsk Priirtyshye: monograph. 2019. In: Bazhenova O.P. (Ed.). Omsk: Publishing House of the FSBEI of HE Omsk State Agrarian University. (in Russian)

Pokrovskiy D.S., Dutova E.M., Bulatov A.A. et al. 2001. Groundwater in the Republic of Khakassia and water supply for the population. Tomsk: NTL Publ. (in Russian)

Popova T.G. 1946. Algal flora of waters of the Northern Khakassia, Part 1: Algal flora of reservoirs of the Shira (Kachinskaya) steppe. Izvestiya Zapadno-Sibirskogo filiala Akademii nauk SSSR. Seriya biologicheskaya [News of the West-Siberian branch of the Academy of Sciences of USSR. Series Biology] 1 (2): 41–72. (in Russian)

Pozdnyakov N.A. 2025. Analysis of climate change in the Republic of Khakassia. In: Actual problems of economic security and sustainable development of territories: regional and sectoral aspects: Proceedings of the interregional student scientific conference (Krasnoyarsk, November 20–21, 2024). Krasnoyarsk: Krasnoyarsk State Agrarian University. pp.: 113–115. (in Russian) URL: https://kgau.ru/science/konferentsii/content3/99.pdf (accessed: 15.04.2026)

Savichev O.G., Guseva N.V., Abdullaev B.D. 2015. Water balance of the Shira – Itkul lake system (Khakassia). Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta [Tomsk State University Journal] 391: 214–219. DOI: 10.17223/15617793/391/34 (in Russian)

Stenger-Kovács C., Béres V.B., Buczkó K. et al. 2023. Diatom community response to inland water salinization: a review. Hydrobiologia 850: 4627–4663. DOI: 10.1007/s10750-023-05167-w

Stenina A.S. 2009. Diatoms (Bacillariophyta) in the lakes of the east of the Bolshezemelskaya tundra. Syktyvkar: Komi Research Centre of Ural Department of Russian Academy of Sciences. (in Russian)

Tanzybaev M.G. 1993. Soils of Khakassia. Novosibirsk: Nauka Publ. (in Russian)

Vodeneeva E.L., Kulizin P.V., Okhapkin A.G. 2022. Algae of the Kerzhensky Nature Reserve. Annotated List of Species. In: Korneva L.G. (Ed.), Flora and Fauna of Nature Reserves. Vol. 146. Moscow. (In Russian)

Volobaev P.A. 1992. Supplements to the flora of hydrophilic plants in Siberia. Botanicheskii zhurnal [Botanical journal] 77(5): 62–70. (in Russian)

Yarushina M.I., Tanaeva G.V., Eremkina T.V. 2004. Algae flora of water bodies of the Chelyabinsk region. Ekaterinburg: Ural Branch of the Russian Academy of Sciences. (in Russian)

Zadereev E.S., Drobotov A.V., Tolomeev A.P. et al. 2021. The effect of salinity and nutrient load on the ecosystems of selected lakes in the south of Siberia. Zhurnal Sibirskogo federal'nogo universiteta. Biologiya [Journal of Siberian Federal University. Biology] 14 (2): 133–153. DOI: 10.17516/1997-1389-0343 (in Russian)

Ziemann H. 1997. The infuence of diferent ion ratios on the biological effect of salinity in running waters of Thuringia (Germany) Limnologica 27: 19–28.

Zimmermann-Timm H. 2007. Salinisation of inland waters. In: Lozán J.L., Grassl H., Hupfer P., Menzel L. & Schönwiese C.-D. (Eds.), Global Change: Enough water for all? Hamburg: Verlag Wissenschaftliche Auswertungen/GEO, pp. 133–136.

Оригинальная статья

Мезогалобные виды диатомовых водорослей в пресном озере Иткуль (Хакасия, Россия)

Макеева Е.Г.[1,2]*, Михайлина Н.Р.[2], Семенова В.В.[2]

[1] Государственный природный биосферный заповедник «Хакасский», ул. Цукановой, 164, Абакан, 655017, Россия
[2] Хакасский государственный университет им. Н.Ф. Катанова, ул. Ленина, 90, Абакан, 655017, Россия

АННОТАЦИЯ. Приведен список видов мезогалобных диатомей, обнаруженных в пресном озере Иткуль за период 2006–2025 гг. Озеро расположено в степной зоне Республики Хакасия, Беле-Ширинской бессточной области. Определено 28 видовых и внутривидовых таксонов мезогалобных диатомей, принадлежащих к 17 родам. Как правило, мезогалобы в озере малочисленны и не играют существенной роли в альгоценозах, однако их разнообразие и интенсивность развития в перифитоне несколько больше, чем в других сообществах. Указаны сведения по частоте встречаемости каждого из таксонов. Наиболее активные виды в перифитоне по относительной частоте встречаемости: *Navicula capitatoradiata* H. Germain ex Gasse (до 90%), *Mastogloia danseyi* (Thwaites) Thwaites ex W. Smith (до 53,3%), *M. elliptica* (C. Agardh) Cleve (до 44,2%), *Nitzschia denticula* Grunow (до 69,8%). В 2024–2025 гг. наблюдали локальное массовое развитие *Navicula capitatoradiata*, *Mastogloia elliptica* в сообществах эпилитона и эпифитона. Предполагается, что процентное соотношение групп галобности и развитие мезогалобных видов в озере зависят от понижения уровня воды в ответ на постепенный рост годовой температуры атмосферного воздуха и повышение температуры воды, а также от локального засоления прибрежных участков.

Ключевые слова: диатомовые водоросли, мезогалобные виды, пресное озеро, Республика Хакасия

Для цитирования: Макеева Е.Г., Михайлина Н.Р., Семенова В.В. Мезогалобные виды диатомовых водорослей в пресном озере Иткуль (Хакасия, Россия) // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - С. 372-390. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-372

1. Введение

Мезогалобы – обитатели солоноватых прибрежных вод морей и эстуариев, континентальных вод с соленостью от 5‰ до 20‰ (Баринова и др., 2006). Представители этой группы редко доминируют в типичных пресных озерах, но встречаются там в качестве индикаторов локального повышения минерализации. Присутствие мезогалобных видов в диатомовых комплексах пресноводных экосистем Сибири отмечали многие исследователи (Попова, 1946; Митрофанова и др., 2007; Пестрякова и Слепцова, 2007; Генкал и др., 2011 и др.). Такие виды являются малочисленными и не играют существенной роли в альгоценозах.

Для некоторых пресных озер Хакасии (Южная Сибирь), расположенных в степной, засушливой зоне, также характерно наличие мезогалобных представителей диатомей в составе водорослевого населения. Как правило, это спорадически встречаемые виды с низкой численностью. Однако в последние годы наблюдаются отдельные случаи их массового развития в эпилитных и эпифитных сообществах одного из крупных пресных озер Хакасии – оз. Иткуль.

Диатомовые водоросли обладают высоким потенциалом для индикации изменений в большинстве сред обитания, учитывая известные региональные взаимосвязи между ними и окружающей средой (Pestryakova et al., 2018). Одними из наиболее важных переменных, влияющих на состав диатомовых сообществ, являются общая минерализация и ионный состав воды, которые определяются различными природными факторами, в том числе типом коренных пород водосборного бассейна (Ziemann, 1997).

Оз. Иткуль имеет низкую минерализацию (по сравнению с другими озерами Ширинского района

*Автор для переписки. Адрес e-mail: meg77@yandex.ru (Е.Г. Макеева)

Поступила: 12 мая 2026;
Принята после доработки: 10 августа 2026;
Опубликована online: 28 августа 2026

© Автор(ы) 2026. Эта работа распространяется под международной лицензией Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.

Хакасии), что объясняется расположением котловины озера преимущественно в карбонатных отложениях бейской свиты среднего девона, в то время как минерализованные водоемы, как правило, находятся в красноцветных отложениях верхнего девона и нижнего карбона (Архипова и др., 2014). В то же время в почвенном покрове озерной котловины, представленном в основном разновидностями обыкновенных и южных черноземов и луговых почв, встречаются солонцеватые и солончаковые почвы (Танзыбаев, 1993).

Известно, что изменение климата оказывает значительное влияние на уровень солености и процессы засоления ускорились, что подтверждается явными региональными и глобальными трендами, однако отдельные озера могут демонстрировать высокую изменчивость в своей реакции на изменение климата (Stenger-Kovács et al., 2023).

Для территории Хакасии установлено повышение среднегодовых температур (Поздняков, 2025) и количества осадков (Николаева и Николаев, 2014), что может приводить к изменению минерализации водоемов. Исследователи отмечают падение солености и рост уровня воды в некоторых озерах Ширинского района Республики Хакасия (Задереев и др., 2021). Сведения об увеличении или уменьшении минерализации воды оз. Иткуль отсутствуют. Не располагая ежегодными данными о минерализации озера трудно оценивать влияние данного фактора на водорослевое население. Однако мы имеем возможность наблюдать за изменением уровня воды озера (в 2019 г. по инициативе руководства заповедника на водоеме установлен гидропост), колебание которого оказывает воздействие на состав альгологических сообществ, соотношение экологических групп по отношению к разным факторам среды, в том числе к величине общей минерализации.

С одной стороны, мезогалобные водоросли – надежные индикаторы повышения солености, и их массовое развитие сигнализирует о перестройке экосистемы озера. Засоление может оказать существенное влияние на функции и услуги экосистемы в результате потери биоразнообразия, изменений в составе водных сообществ (доминирование солеустойчивых видов, распространение инвазивных видов) (Stenger-Kovács et al., 2023). Вместе с тем, мезогалобные виды – лишь небольшая часть разнообразного сообщества водорослей оз. Иткуль, которое включает 431 вид (466 видовых и внутривидовых таксонов). Для подтверждения влияния климатических изменений важно проанализировать сезонную и межгодовую динамику структурных и функциональных показателей всей альгофлоры озера и выявить факторы, определяющие степень их варьирования в водоеме. А оценка связей элементов биоценоза с уровневым режимом позволит оценить возможные тенденции изменения экосистемы в будущем при заданных изменениях климата и соответственно режима наполнения озера (Догановский, 2007).

Цель данной работы заключается в выявлении видового состава мезогалобных диатомовых водорослей в пресном водоеме, особенностей их распространения и частоты встречаемости в различных биотопах озера.

2. Материалы и методы

2.1. Район исследований

Озеро Иткуль расположено в Чебаково-Балахтинской котловине Назаровско-Минусинской межгорной впадины, находится в пределах Беле-Ширинской бессточной области Июсо-Ширинской степи; в административном отношении – в Ширинском районе Республики Хакасия. Акватория оз. Иткуль заповедная (государственный заповедник «Хакасский») (Рис. 1). Климат Чебаково-Балахтинской котловины отличается резко выраженной континентальностью и аридностью, что способствует формированию на данной территории большого количества минерализованных озер (Parnachev and Degermendzhy, 2002).

Площадь водной поверхности оз. Иткуль – 23,25 км^2, максимальная глубина – 17 м, абсолютная отметка уреза воды – 456,2 м. В геологическом отношении котловина озера приурочена к крупной одноименной синклинальной структуре. В составе осадочных образований преобладают сероцветные известняки и мергели при подчиненном развитии известковых алевролитов и песчаников. Западный и юго-западный берега озера заболочены (низинные дернисто-осочковые и тростниковые болота). Там в него впадает р. Карыш, ручьи Харасуг (Карасук) и Шексуг (Шелсуг), вытекает небольшой руч. Тушининский (Природные воды…, 2003). Донные отложения оз. Иткуль в прибрежной зоне представлены щебнем, грубозернистым песком с галькой. На больших глубинах (более 3 м) преобладают тонкие илы.

Гидрологический режим озера подвержен периодическим колебаниям и зависит от величины стока впадающих рек и ручьев, количества атмосферных осадков и притока подземных и грунтовых вод в котловину (Архипова и др., 2014). Водоем представляет собой единую гидрохимическую систему с соленым оз. Шира, где выполняет роль проточного резервуара воды и растворенных в ней солей. Испарение оказывает значительно меньшее влияние на формирование гидрохимического баланса оз. Иткуль по сравнению с оз. Шира, наблюдается большая интенсивность водообмена в оз. Иткуль (Гусева и Савичев, 2016).

Воды озера гидрокарбонатные натриево-магниевые (Гусева и Савичев, 2016). Активная реакция среды 8,6–9,0. Минерализация воды в 1904 г. составляла 0,68 г/л; в 1989, 1995 гг. – 0,69 г/л (Природные воды…, 2003); в 2015 г. – 0,55 г/л, содержание гидрокарбонатов – 293 мг/л, карбонатов – 12,2 мг/л, сульфатов – 76,0 мг/л, хлоридов – 32,0 мг/л (Гусева и Савичев, 2016); в 2019 г. сухой остаток – 0,4 г/л, гидрокарбонаты – 231,8 мг/л, сульфаты – 67,2 мг/л, хлориды – 35,0 мг/л, карбонаты – 36,0 мг/л (Задереев и др., 2021).

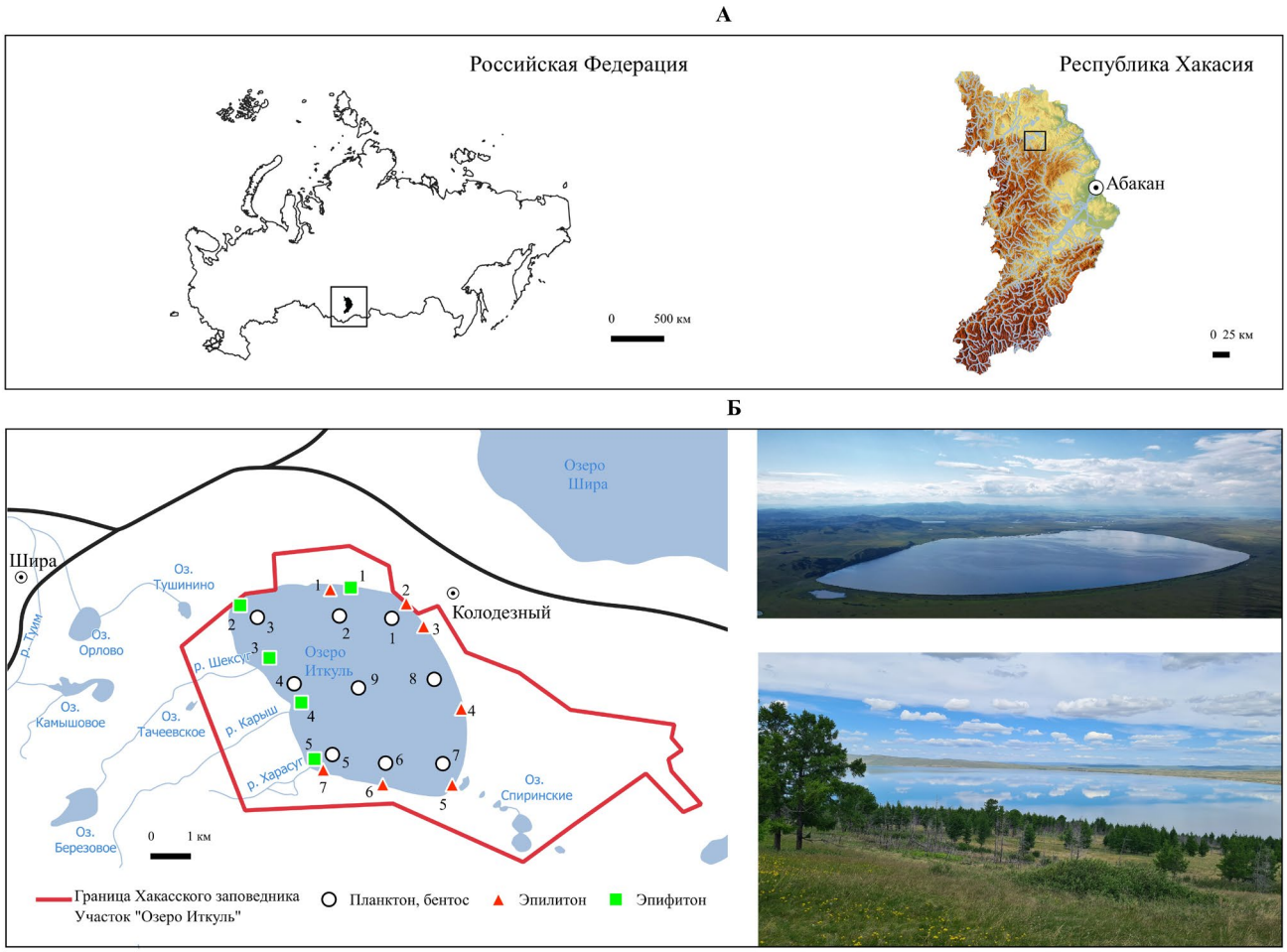


Рис.1. Географическое положение оз. Иткуль и станции отбора проб. А – Расположение озера на карте Российской Федерации и Республики Хакасия; Б – Станции отбора проб.

2.2. Отбор и анализ проб

Видовой состав планктонных, бентосных и перифитонных водорослей оз. Иткуль изучали с 2006 по 2009 гг. Далее – фитопланктон ежегодно, с 2023 г. по 2025 г. – эпилитные сообщества диатомей, в 2024–2025 гг. – диатомовый эпифитон тростника.

В 2006–2009 гг. пробы собирали на 9 станциях (Рис. 1), расположенных в центральной части озера и прибрежье. Планктонные водоросли собирали сетью Апштейна (мельничное сито с размером ячеи 64 мкм) и батометром Руттнера с поверхностного горизонта (0,5–1 м). Отбор бентосных водорослей осуществлялся с помощью лота или зачерпывания в склянку с разных глубин. Пробы фитоэпифитона с *Phragmites australis* (Cav.) Trin ex Steud в 2003–2025 гг. были взяты на пяти станциях, расположенных вдоль северного, южного и западного берегов оз. Иткуль. Подводные части тростника (3–5 стеблей) срезали, затем счищали обрастания с помощью скальпеля в емкости. Пробы фитоэпилитона в 2022–2025 гг. были собраны с 7 станций, расположенных вдоль северного, восточного, южного берегов озера на глубинах 0–1 м. Сбор обрастаний осуществляли путем соскоба налета с поверхности камней с помощью скальпеля или зубной щетки и смыва дистиллированной водой. На каждой станции брали по 10 камней, получая смешанную пробу. Пробы фиксировали 40% формальдегидом.

Для изготовления постоянных препаратов использовали метод сжигания проб смесью концентрированной серной кислоты и бихромата калия, в последние годы (2024–2025 гг.) – перекисью водорода, препараты готовили на среде Эльяшева. Определение проводили при помощи светового микроскопа «Olympus CX41», учитывая относительное обилие по шкале Стармаха (Водоросли…, 1989), выделяли доминантные и содоминантные виды (5 и 4 балл по шкале соответственно). Относительную частоту встречаемости (активности) таксонов рассчитывали в процентах от общего числа проб (Девяткин и Митропольская, 2002), для всех выявленных видов различных отделов водорослей и всех сообществ в 2006–2009 гг., в последующие периоды (2023–2025 гг.) только для диатомей, отдельно для эпилитона и эпифитона. Частота доминирования рассчитывалась как процент проб, в которых обилие вида составило 4 или 5 баллов к общему числу проб эпилитона или эпифитона.

Названия и систематическая принадлежность таксонов приведены согласно AlgaeBase (Guiry and Guiry, 2026); экологическая характеристика диатомей – базе данных экологических показателей пресноводных водорослей и цианобактерий (Barinova, 2025).

Графики межгодового распределения суммы осадков и средней температуры воздуха построены по данным Хакасского центра по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды – фили-

ала ФГБУ «Среднесибирское УГМС» (метеостанция Шира), диаграммы уровня и температуры воды оз. Иткуль – согласно сведениям гидропоста на оз. Иткуль (период открытой воды).

3. Результаты

Диатомовые водоросли озера характеризуются высоким видовым богатством – 301 вид (324 видовых и внутривидовых таксона), относящихся к 3 классам, 14 порядкам, 30 семействам, 71 роду. Сообщество диатомей оз. Иткуль – преимущественно пресноводное, с большим вкладом солоноватоводных видов, реже встречаются мезогалобы и эвригалинные виды (Рис. 2).

По отношению к солености воды в озере преобладают индифференты (62,3% от общего числа видовых и внутривидовых таксонов) и галофилы – 12,3%. Галофобы составляют 8,95% от таксономического разнообразия диатомей; эвригалинные – 0,3% (*Opephora mutabilis* Sabbe & Wyverman). В озере обнаружено 27 видов (28 видовых и внутривидовых таксонов), относящихся к мезогалобам (8,6%):

Ctenophora pulchella (Kützing) D.M. Williams & Round – в обрастаниях тростника, камней, в 2006–2009 гг. (встречаемость 0,9%).

Tabularia tabulata (C. Agardh) Snoeijs – в планктоне прибрежья, в 2006–2009 гг. (встречаемость 0,9%).

Anomoeoneis costata (Kützing) Hustedt – в обрастаниях тростника, сентябрь 2025 г., (встречаемость 0,9%). Возможно, вид принесен птицами во время осенней миграции, с рядом расположенного оз. Шира.

Anomoeoneis sphaerophora Pfitzer – в планктоне прибрежья, в иле на середине озера, в 2006-2009 гг. (встречаемость 1,8%). В 2025 г. встретился в районе впадения р. Карыш, западный берег на тростнике, август (встречаемость 2,3% с июня по сентябрь).

Gomphonema salinarum (Pantosek) Cleve – в обрастаниях камней, в 2006–2009 гг. (встречаемость 0,9%), юго-западная часть озера.

Navicymbula pusilla (Grunow) Krammer – в планктоне прибрежья и иле (западный берег), в 2006–2009 гг. (встречаемость 2,8%).

Navicula capitatoradiata H. Germain ex Gasse – наиболее распространенный вид, встречен во всех сообществах, кроме грунтов с примесью глины и обрастаний хары войлочной. В 2006–2009 гг. встречаемость 16,5% для всех сообществ, в перифитоне – 49,0%. В 2024–2025 гг. встречаемость в эпилитоне – 47,5–86,6%; в эпифитоне с июня по сентябрь – 50–62,8%, в августе 2025 г. – 90,0%. В 2024 г. содоминировал в районе восточного берега озера в сентябре в эпилитоне, в июле – доминировал в эпифитоне тростника, западный берег. В период с мая по сентябрь встречался по всей акватории.

Navicula kefvingensis (Ehrenberg) Kützing – в иле западного берега, в обрастаниях рдеста гребенчатого, в 2006–2009 гг. (встречаемость 1,8%).

Prestauroneis crucicula (W. Smith) Genkal & Yarushina – ил, середина озера, на песчаном грунте,

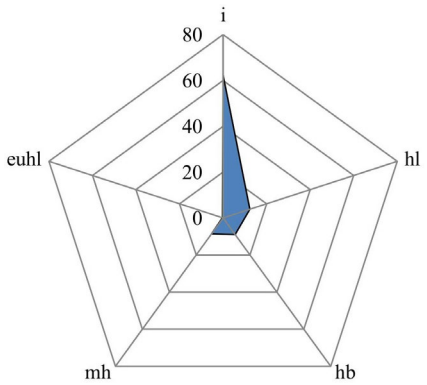


Рис.2. Распределение диатомовых водорослей – индикаторов солености воды в оз. Иткуль, % (i – индифференты, hl – галофилы, hb – галофобы, mh – мезогалобы, euhl –эвригалинные).

в планктоне прибрежья, в 2006–2009 гг. (встречаемость 1,8%); в 2025 г. в перифитоне тростника в июле (встречаемость с июня по сентябрь 2,3%).

Prestauroneis protracta (Grunow) Kulikovskiy & Glushchenko – на песчано-илистом грунте в 2006 г. (встречаемость 0,9%). В 2025 г. в обрастаниях камней в июле (встречаемость 2,5%), на восточном берегу озера.

Craticula halophila (Grunow) D.G. Mann – в планктоне прибрежья, на камнях, в обрастаниях рдеста гребенчатого, рдеста блестящего, хары войлочной в 2006–2009 гг. (встречаемость 1,8%), в 2025 г. в эпилитоне, август (встречаемость 2,5%), в перифитоне тростника (встречаемость 9,3% с июня по сентябрь, наиболее активен в августе – 20%).

Craticula halophila var. *subcapitata* (Østrup) Czarnecki – в обрастаниях тростника и хары войлочной в 2006–2009 гг. (встречаемость 1,8%).

Mastogloia braunii Grunow – в планктоне прибрежья, в обрастаниях тростника и горца земноводного, камней, в 2006–2009 гг. (встречаемость 5,5% для всех сообществ). В 2023–2025 гг. в эпилитоне южного берега (встречаемость за весь период исследований с мая по сентябрь – 7,7%, в августе 14,3–28,6%).

Mastogloia danseyi (Thwaites) Thwaites ex W. Smith – в 2006–2009 гг. в планктоне прибрежья, иле западного берега, на песчано-илистом грунте, тростнике, рдесте блестящем, харе, камнях (встречаемость 16,5% для всех сообществ). В эпилитоне 2023 г. – 7,7%; 2024 г. – 53,3%; в 2025 г. – 30%. Вид наиболее активен в августе, в районе южного берега озера. Встречаемость в эпифитоне тростника – 34,9%, также более активен в августе.

Mastogloia elliptica (C. Agardh) Cleve – в планктоне прибрежья, иле с середины озера, на песчаном, песчано-галечниковом грунте, тростнике, камнях, в 2006–2009 гг. (встречаемость 0,9% для всех сообществ). В эпилитоне 2023 г. встречаемость вида – 23,1%, 2024 г. – 26,6%, 2025 г. – 25,0%, во все последние годы, большая активность вида отмечена в августе, в 2025 г. вид доминировал в августе в районе южного берега. В эпифитоне тростника в 2024–2025 гг. вид встречен в 41,7–44,2% проб, большая активность вида характерна для августа.

Mastogloia smithii Thwaites ex W. Smith – встречен во всех сообществах, кроме ила с середины озера, грунтов с примесью глины и песка. Ранее в 2006–2009 гг. встречаемость во всех сообществах составляла 31,2%, в планктоне – 18,0–28,0%. В 2023–2025 гг. в эпилитоне вид встречался в 7,7–22,5% проб, большая активность вида отмечалась в августе.

Achnanthidium biasolettianum (Grunow) Lange-Bertalot – в 2006–2009 гг. в эпилитоне (встречаемость 0,9%).

Crenotia gibberula (Grunow) Wojtal – ранее, в 2006–2009 гг. – планктон прибрежья, ил западного берега, в обрастаниях камней, макрофитов (встречаемость 1,9%).

Crenotia thermalis (Rabenhorst) Wojtal – только в планктоне прибрежья в 2006–2009 гг. (встречаемость 0,9%).

Halamphora coffeiformis (C. Agardh) Mereschkowsky – в планктоне прибрежья, иле с середины озера, на рдесте гребенчатом в западной части озера в 2006–2009 гг. (встречаемость 24,6%). В последние годы в планктоне и обрастаниях камней и тростника вид не обнаружен.

Halamphora perpusilla (Grunow) Q.-M. You & Kociolek встречена только в грунтах в 2006–2009 гг.: в иле с середины озера, песчано-илистом, песчано-галечниковом грунтах (встречаемость 7,3%). В период с 2010 по 2025 гг. не изучали состав бентоса.

Amphora affinis Kützing – на тростнике в июле 2024 г., западный берег (встречаемость 8,33%).

Rhopalodia gibberula (Ehrenberg) O. Müller – в 2006–2009 гг. в планктоне и иле прибрежья, в обрастаниях (встречаемость 18,3%). В последние годы – периодически с мая по сентябрь в эпилитоне, единично. Встречаемость в 2023 г. – 7,7%, в 2024 г. – 26,6%, в 2025 – 2,5%.

Nitzschia commutata Grunow – только на песчаном грунте, единично в 2006–2009 гг. (встречаемость 0,9%).

Nitzschia denticula Grunow – в 2006–2009 гг. в планктоне прибрежья, на песке, камнях, песчано-илистом грунте, тростнике, рдестах, харе (встречаемость 11,9%). Встречаемость в эпилитоне 2023 г. – 7,7%, в 2024 г. – 13,3%, в 2025 г. – 25,0%. В эпифитоне тростника 2024–2025 гг. встречаемость 50,0–69,8%, вид более активен в августе.

Tryblionella apiculata W. Gregory – на тростнике, в 2025 г. в августе-сентябре, встречаемость 10,0–11,1%.

Tryblionella hungarica (Grunow) Frenguelli – в 2006–2009 гг. на песчано-галечниковом грунте (встречаемость 0,9%).

Surirella ovalis Brébisson – в 2006–2009 гг. на тростнике в западной части озера (встречаемость 0,9%), в последние годы также на тростнике (встречаемость 2,3%).

Виды, зарегистрированные в планктоне, в основном характерны для проб, собранных сетью Апштейна. В количественных пробах обнаружены лишь *Navicula capitatoradiata* с численностью 0,5–1,63 тыс. кл./л и *Crenotia gibberula* (0,2–0,5 тыс. кл./л). Большая часть мезогалобных видов обнаружена в бентосе и перифитоне.

Важнейшая природная особенность озер степной зоны Хакасии – это цикличность колебаний уровней воды, обусловленная изменчивостью общей увлажненности. Количество атмосферных осадков оказывает прямое и существенное влияние на динамику минерализации озер. Увеличение осадков обычно приводит к снижению минерализации за счет разбавления воды, тогда как их дефицит повышает концентрацию солей, особенно в бессточных водоемах. Распределение годовых сумм осадков (по данным метеостанции Шира) показано на Рис. 3 А. За последний десятилетний период (2016–2025 гг.) характерен рост годового количества осадков, который составил 44,9 мм по сравнению с периодом 2006–2015 гг.

Возможная причина развития мезогалобных видов водорослей – постепенный рост годовой температуры атмосферного воздуха. Указанный фактор влияет на протекание физико-химических процессов и в целом отражается на химическом составе природных вод (Дрововозова и Кириленко, 2021). Анализ данных многолетних наблюдений на метеостанции Шира показывает рост среднегодовой температуры воздуха за последние 20 лет (Рис. 3 Б). С 2022 по 2025 гг. отмечается снижение уровня и рост температуры воды оз. Иткуль (Рис. 3. В, Г).

Потенциально, повышение температуры воздуха приводит к усилению испарения (особенно на мелководьях), в результате возможно локальное засоление, отражающееся на составе эпилитных и эпифитных сообществ. Кроме того, при повышении количества осадков, вероятно выщелачивание солей из засоленных почв береговой зоны, в результате чего может увеличиваться поступление солей в озеро с поверхностным стоком.

4. Обсуждение

В период наблюдения с 1934 г. по 2025 г. видовой состав и степень развития мезогалобных видов в озере претерпели некоторые изменения. Все виды, обнаруженные в 1934 г. при обследовании оз. Иткуль Т.Г. Поповой (1946), встречены нами в пробах 2006–2009 гг.: *Ctenophora pulchella*, *Achnanthidium biasolettianum*, *Anomoeoneis sphaerophora*, *Prestauroneis crucicula*, *P. protracta*, *Craticula halophila*, *C. halophila* var. *subcapitata*, *Navicymbula pusilla*, *Nitzschia denticula*, *Tryblionella hungarica*, однако из рода *Mastogloia* в списке видов приводился только галофил *M. lacustris* (Grunow) Grunow (в настоящее время доминант в перифитоне, с высокой частотой встречаемости). К 2025 г. в озере выявлено 6 видов рода *Mastogloia*, среди которых характерные представители мезогалобного комплекса озера: *M. braunii*, *M. danseyi*, *M. elliptica*, *M. smithii*. Кроме вышеперечисленных видов, на протяжении периода исследования с 2006 г. в пробах присутствовали: *Navicula capitatoradiata*, *Nitzschia denticula*, *Rhopalodia gibberula*, *Anomoeoneis sphaerophora*, *Craticula halophila*, *Prestauroneis crucicula*, *P. protracta*, *Surirella ovalis*.

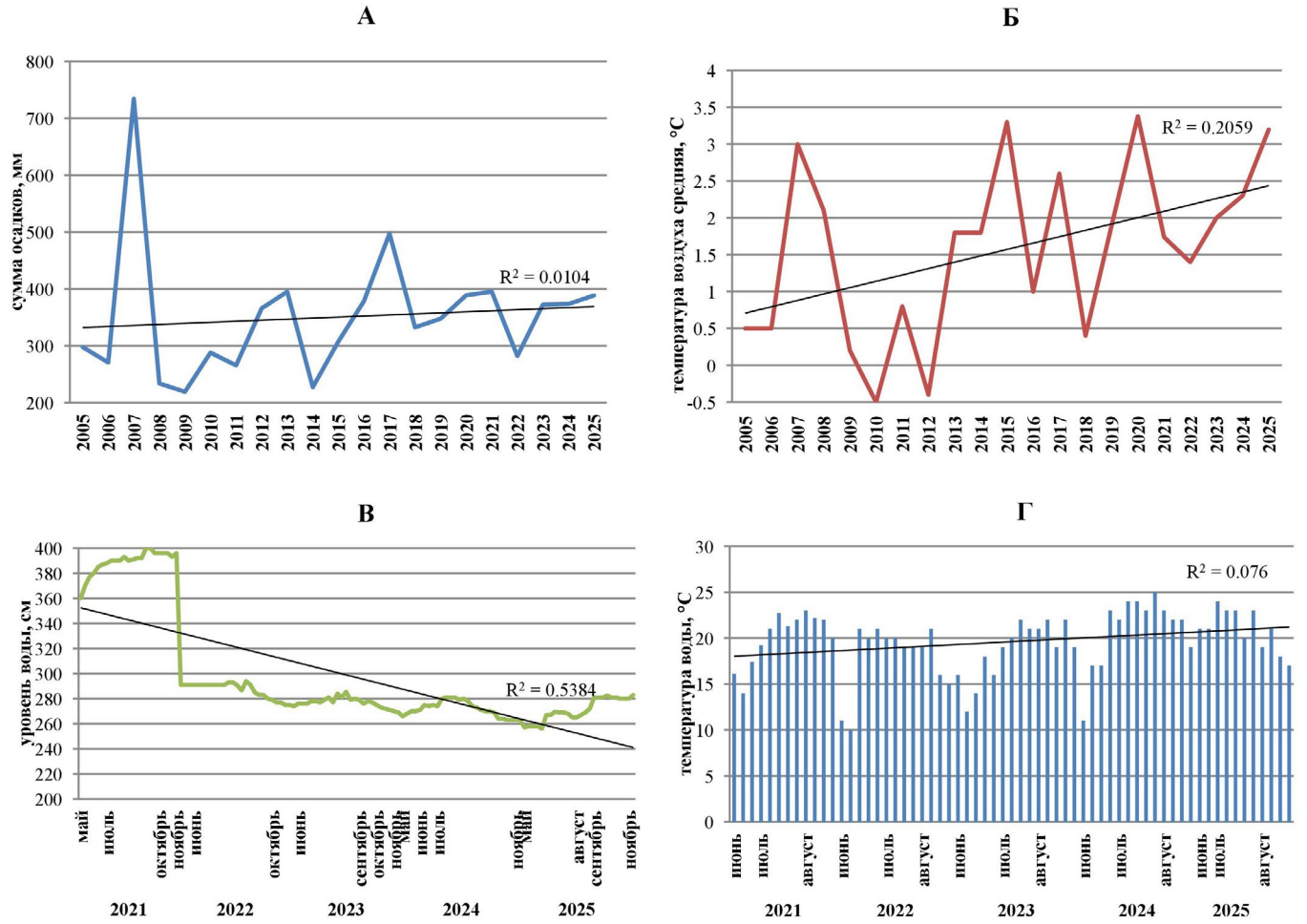


Рис.3. Погодные условия района исследования и гидрологические характеристики оз. Иткуль. А – изменение годовых сумм осадков (по данным метеостанции Шира); Б – изменение среднегодовой температуры воздуха (по данным метеостанции Шира); В – уровень воды оз. Иткуль; Г – температура воды оз. Иткуль.

Часть видов, выявленных в 2006–2009 гг., в последние годы не обнаружена, возможно, из-за отсутствия бентосных проб. Среди них *Halamphora perpusilla*, *H. coffeiformis*, *Tabularia tabulata*, *Gomphonema salinarum* и др.

В 2024–2025 гг. в эпифитоне тростника появились новые для озера виды, малоактивные: *Anomoeoneis costata*, *Amphora affinis*, *Tryblionella apiculata*.

Рассмотрим распределение мезогалобных диатомей в водорослевых сообществах. В планктоне озера выявлено 15 видовых и внутривидовых таксонов мезогалобов, относящихся к родам *Tabularia*, *Mastogloia*, *Navicymbula*, *Crenotia*, *Craticula*, *Halamphora*, *Rhopalodia*, они встречались спорадически, не каждый год, в единичном количестве.

В донных грунтах присутствовало 18 мезогалобных видов. Большинство из них обнаружено в иле вдоль западного берега: *Navicymbula pusilla*, *Navicula kefvingensis*, *Mastogloia danseyi*, *M. smithii* и др., в иле центральной части озера: *Anomoeoneis sphaerophora*, *Prestauroneis crucicula*, *Halamphora coffeiformis* и др. Как правило, они имели низкую частоту встречаемости в структуре бентосных ценозов – до 2,7%, кроме *Mastogloia danseyi* – 27,7%, *M. smithii* – 25,0%, *Navicula capitatoradiata*, *Halamphora perpusilla* – 22,0%.

Разнообразие и интенсивность развития мезогалобных диатомей в перифитоне несколько больше, чем в других сообществах: здесь обнаружено 23 видовых и внутривидовых таксона, в последнее время наблюдалось массовое развитие видов *Mastogloia elliptica* (в 2025 г. вид доминировал в обрастаниях камней, станция 7) и *Navicula capitatoradiata* (в 2024 г. вид содоминировал в эпилитоне на станции 3 в сентябре и доминировал в эпифитоне на станции 3 в июле). Доминирование данных видов локализовано в определенных участках водоема. Частота доминирования в эпифитоне *Navicula capitatoradiata* – 7,7%; в эпилитоне – 6,7%; *Mastogloia elliptica* в эпифитоне – 2,5%. В августе 2025 гг. наблюдалась достаточно высокая встречаемость в эпилитных и эпифитных сообществах видов *Navicula capitatoradiata* (90,0% эпифитон), *Nitzschia denticula* (80,0% эпифитон), *Mastogloia danseyi* (55,6% эпифитон), *M. smithii* (71,4% эпилитон), *M. elliptica* (70,0% эпифитон, 57,1% эпилитон).

Что касается пространственного распределения, то более высокое разнообразие мезогалобных форм в перифитоне тростника характерно для средней части западного берега озера (станции 3, 4), 7 видов зарегистрировано на каждой из этих станций (*Mastogloia danseyi*, *M. elliptica*, *Anomoeoneis sphaerophora*, *Prestauroneis crucicula*, *Navicula capitatoradiata*, *Nitzschia denticula*, *Tryblionella apiculata*); в эпилитоне – для южного и юго-западного берегов (станции 6 и 7), также 7 видов

(*Navicula capitatoradiata*, *Mastogloia braunii*, *M. danseyi*, *M. elliptica*, *M. smithii*, *Rhopalodia gibberula*, *Nitzschia denticula*). Во временной динамике пик их видового разнообразия и количественного развития приходился на август 2025 г.

Т.Г. Попова (1946) характеризовала флору оз. Иткуль как пресноводно-солоноводную, с преобладанием в планктоне и бентосе индифферентных и эвригалинных видов, с единичным внедрением галофилов или мезогалобов, отмечала богатство галофилами западного берега, где в устье некоторых водотоков, они находили себе обильное развитие. Наши исследования подтверждают данные замечания. Кроме развития вдоль заболоченного западного берега галофильных и мезогалобных форм диатомовых водорослей, на данном участке водоема обращает внимание малое количество десмидиевых водорослей, основная часть которых предпочитает воды с низким содержанием солей. О повышенной минерализации воды в некоторых прибрежных участках озера также могут свидетельствовать находки галофильных макрофитов, так, П.А. Волобаев (1992) указывал на довольно странный факт нахождения *Ruppia maritima* L. в оз. Иткуль, поскольку вид является облигатным галофитом.

Интересно обнаружение мезогалобов в обрастании тростника в районе впадения р. Карыш, данных о высокой засоленности самой реки нет, минерализация вод 357–446 мг/л (Копылова и др., 2005). Однако в бентосе одного из водотоков, связанных с оз. Иткуль, Т.Г. Попова (1946) отмечала наряду с чисто пресноводными формами, галофилов и мезогалобов, свидетельствующих о значительном засолении ила.

Представители рода *Mastogloia* – одни из часто встречаемых диатомовых водорослей в оз. Иткуль. Большинство таксонов этого рода обитают в морской среде, и лишь небольшое их количество встречается в пресноводных экосистемах. В основном в качестве субстратов они предпочитают погруженные растения, камни, а также донные отложения; развиваются в самых разнообразных пресноводных местообитаниях: ручьях и реках, озерах, прудах, сфагновых болотах и др. Характерные для оз. Иткуль виды *Mastogloia dansei*, *M. elliptica* обнаружены в значительном количестве в болотах, небольших реках, минеральных источниках Македонии среди обитателей эпифитона и эпилитона (Pavlov et al., 2016). В пресных озерах Челябинской области развивались *Mastogloia braunii*, *M. elliptica*, *M. smithii* (Ярушина и др., 2004).

Наличие мезогалобных диатомей во флорах пресноводных водоемов и водотоков отмечают многие исследователи. Как правило, данные виды составляют не более 3% от общего числа выявленных индикаторов галобности. В озерах востока Большеземельской тундры, а также в Уральских водохранилищах, мезогалобы встречаются редко, в большинстве с низкими оценками обилия, имеют иной состав, из схожих с оз. Иткуль видов – *Navicula kefvingensis*, *Navicymbula pusilla*, *Halamphora perpusilla* (Стенина, 2009); *Ctenophora pulchella*, *Anomoeoneis sphaerophora* (Генкал и Еремкина, 2023). В фитопланктоне Онежского озера, как и в оз. Иткуль, развиваются *Achnanthidium biasolettianum*, *Navicymbula pusilla*, *Craticula halophila* var. *subcapitata*, *Rhopalodia gibberula* и др. (Чекрыжева, 2012).

Для планктонных сообществ озер и рек Омского Прииртышья известны *Tabularia tabulata*, *Ctenophora pulchella*, *Navicula kefvingensis*, *Nitzschia denticula*, *Surirella ovalis*, *Tryblionella apiculata*, *Halamphora coffeiformis* (Фитопланктон…, 2019).

В альгоценозах бентали устья р. Оки среди показателей повышенных значений минерализации вод отмечали *Navicula capitatoradiata*, *Tryblionella hungarica* и др. (Хедаириа и др., 2022). Мезогалобные виды обнаружены единичными экземплярами в реках Амурской области, среди них *Navicula capitatoradiata, Tabularia tabulata* (Медведева, 2023).

В озерах и реках Керженского заповедника (бассейн р. Волга) зарегистрированы мезогалобные виды: *Ctenophora pulchella*, *Tabularia tabulata*, *Navicula capitatoradiata*, *Tryblionella hungarica*, *Nitzschia denticula* и др. (Воденеева и др., 2022).

В озерах близлежащих регионов видовой состав мезогалобов проявляет большее сходство с оз. Иткуль. Так, в планктоне и донных отложениях оз. Телецкое (Республика Алтай) обнаружены *Navicula capitatoradiata*, *N. kefvingensis*, *Tabularia tabulata*, *Ctenophora pulchella*, *Prestauroneis protracta*, *Crenotia thermalis*, *Navicymbula pusilla*, *Halamphora coffeiformis*, *H. perpusilla*, *Nitzschia commutata*, *N. denticula*, *Surirella ovalis* (Митрофанова и др., 2007). Большинство мезогалобных видов оз. Иткуль (85,7 %) характерно для пресных озерных экосистем Монголии, особенно для донных осадков озер Буйр и Ачит (Дорофеюк и Цэцэгмаа, 2002). В пресноводном проточном водоеме – оз. Ачит, количество галофильных видов диатомовых равно 11%, а мезогалобных – 4%, среди них *Mastogloia braunii*, *M. danseyi*, *M. smithii*, *Anomoeoneis costata* и др., неслучайно, т.к. озеро находится в районе низкогорных пустынных степей и по берегам расположены засоленные почвы (Дорофеюк, 1985). В пресном оз. Ногаан-Холь (Республика Тыва) отмечен только один вид – *Ctenophora pulchella* (Науменко и Назын, 2023). В то время как в крупном пресном озере Тывы Азас, мезогалобы не обнаружены (Науменко и Назын, 2024).

Мезогалобные диатомовые водоросли находили также и в других пресных озерах Ширинского района Хакасии: *Mastogloia danseyi*, *Anomoeoneis costata*, *Nitzschia denticula* – в озерах Черное и Фыркал; *Anomoeoneis sphaerophora*, *Craticula halophila*, *C. halophila* var. *subcapitata*, *Navicymbula pusilla* – оз. Черное; *Navicula capitatoradiata* – оз. Фыркал, (Попова, 1946). В расположенных рядом с Иткулем оз. Тушинино (Тухлое) – *Nitzschia denticula* указывалась среди обычных видов, редко и единично встречались *Anomoeoneis sphaerophora*, *Craticula halophila* var. *subcapitata*; в оз. Орлово – *Navicula capitatoradiata*, *Mastogloia smithii*, *Nitzschia denticula* (Попова, 1946).

Данные относительно экологии некоторых мезогалобных видов противоречивы. Часть из них

(*Navicymbula pusilla, Crenotia gibberula*, *Anomoeoneis sphaerophora*, *Navicula capitatoradiata*, *Halamphora perpusilla* и др.) некоторыми альгологами рассматривается как галофильные или индифферентные по отношению к солености (Стенина, 2009; Горбулин, 2016 и др.).

Причиной развития мезогалобных видов водорослей в оз. Иткуль скорее всего является локальное повышение минерализации воды в прибрежье, которое не распространяется на всю озерную экосистему. По данным О.Г. Савичева и др. (2015) оз. Иткуль характеризуется интенсивным водообменом, сглаживающим эффект концентрирования солей в озерных водах в процессе испарения воды с акватории в июне-июле. По сравнению с оз. Шира, здесь наблюдается меньшее время взаимодействия озерных вод с донными отложениями, в итоге интенсивность водного баланса определяет различия озерных вод по минерализации и химическому составу (Гусева и Савичев, 2016).

Возможно влияние более минерализованных подземных вод, т.к. в степной части Ширинского района они характеризуются повышенной минерализацией (Покровский и др., 2001).

Природными причинами засоления вод могут быть изменение климата в сочетании с повышенным испарением и низким уровнем осадков; отсутствие или ограничение притока или стока (Zimmermann-Timm, 2007). В нашем случае мы наблюдаем увеличение годовой температуры воздуха и поверхностных вод озера, но при этом некоторое увеличение годового количества осадков. Любое изменение годовых колебаний температуры оказывает значительное влияние на оттаивание и промерзание почв и пород, тем самым сказываясь на условиях питания поверхностных и грунтовых вод; с повышением температуры возрастает скорость растворения солей, присутствующих в природных растворах (Дрововозова и Кириленко, 2021). В свою очередь, диатомовые реагируют на изменения концентрации соли, даже при концентрации хлоридов всего 100 мг на литр (Zimmermann-Timm, 2007).

Многолетние колебания уровней формируют разнопериодные изменения среды обитания биоценозов, меняются размеры мелководий, глубины, минерализация, количество фосфатов с водосбора, условия прогревания воды, продолжительность вегетационного периода (Догановский, 2007). Возможно, данный фактор влияет на изменение состава групп диатомовых водорослей по отношению к солености воды в оз. Иткуль. После периода максимального уровня воды в 2021 г. (по данным гидропоста 2019–2025 гг.), в эпилитоне озера в 2023 г. мы наблюдали увеличение числа галофобов на 8,9%, уменьшение числа галофилов и мезогалобов на 5,4 и 2,8% (соответственно) при сравнении с экологическими спектрами данного сообщества в 2006–2009 гг. (Макеева и Михайлина, 2024). В 2024–2025 гг., напротив, увеличилось число галофильных организмов (на 9,5–12,1%) и мезогалобов (на 1,1%); сократилось число галофобных видов (на 7,1–7,9%). В обрастаниях тростника в 2025 г. прослеживалась сходная динамика.

Присутствие в составе индикаторов солености значительного числа галофильных и мезогалобных видов, возможно, также обусловлено тем, что почвы, формирующие берега, засолены, что способствовало повышению минерализации воды во время снижения уровня воды.

5. Заключение

Мезогалобные виды диатомовых водорослей встречались в фитопланктоне, фитобентосе и фитоперифитоне, по всей акватории оз. Иткуль, но, как правило, сосредоточены вдоль западного и юго-западного берегов озера, отмечено небольшое число массовых или часто встречающихся видов.

Наиболее богаты мезогалобами перифитонные сообщества. На отдельных участках литорали в эпилитоне и эпифитоне наблюдались вспышки развития мезогалобов, однако данные виды имели низкую частоту доминирования. Развитие большинства солелюбивых видов приурочено к концу лета (август).

В прибрежной зоне оз. Иткуль водорослевое население более пестрое в экологическом отношении, мезогалобы встречаются здесь в большем количестве, что говорит о локальном засолении прибрежных участков.

Различия в видовом составе диатомей в разных местообитаниях и сезонные изменения в группировках диатомовых водорослей косвенно свидетельствуют о пространственно-временном разнообразии условий обитания диатомовых водорослей в оз. Иткуль.

Результаты настоящего исследования, направленного на выявление мест обитания и встречаемости мезогалобных видов, могут дополнять и расширять сведения о закономерностях флористического распределения данных организмов и их галотолерантости.

Дальнейшее детальное изучение развития диатомовых водорослей с учетом анализа их экологических спектров во взаимосвязи с уровневым режимом и динамикой климатических факторов будет способствовать их успешному использованию в качестве точных индикаторов изменения состояния окружающей среды.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

Архипова Н.В., Макаренко Н.А., Парначев В.П. и др. 2014. Экогеохимические особенности почвенного покрова и донных отложений кластерного участка «Озеро Иткуль» Государственного природного заповедника «Хакасский». Вестник Томского государственного университета 386: 193–200.

Баринова С.С., Медведева Л.А., Анисимова О.В. 2006. Биоразнообразие водорослей – индикаторов окружающей среды. Тель-Авив: PiliesStudio.

Воденеева Е.Л., Кулизин П.В., Охапкин А.Г. 2022. Водоросли Керженского заповедника (аннотированный список видов). В: Корнева Л.Г. (ред.), Флора и фауна заповедников. Вып. 146. Москва.

Водоросли. Справочник. 1989. В: Вассер С.П. (отв. ред.). Киев: Наукова думка.

Волобаев П.А. 1992. Дополнение к флоре гидрофильных растений Сибири. Ботанический журнал 77 (5): 62–70.

Генкал С.И., Бондаренко Н.А., Щур Л.А. 2011. Диатомовые водоросли озер юга и севера Восточной Сибири. В: Девяткин В.Г. (отв. ред.). Рыбинск: ОАО «Рыбинский дом печати».

Генкал С.И., Еремкина Т.В. 2023. Диатомовые водоросли разнотипных Уральских водохранилищ (Свердловская обл.). Биология внутренних вод 3: 291–300. DOI: 10.31857/S0320965223030087

Горбулин О.С. 2016. Видовой состав и аутэкология Bacillariophyta континентальных водоемов Украины. Фиторазнообразие Восточной Европы 10 (2): 33–95.

Гусева Н.В., Савичев О.Г. 2016. Гидрохимический баланс системы озер Иткуль-Шира (Хакасия, Российская Федерация). Сибирский экологический журнал 5: 718–728. DOI: 10.15372/SEJ20160509

Девяткин В.Г., Митропольская И.В. 2002. Встречаемость видов водорослей как показатель биологического разнообразия альгоценозов. В: Папченков В.Г. (ред.), Динамика разнообразия гидробионтов во внутренних водоемах России. Ярославль: Изд-во ЯГТУ, С. 5–22.

Догановский А.М. 2007. Уровенный режим озер – интегральный показатель климатических и экологических изменений. Общество. Среда. Развитие (Terra Humana) 1 (2): 103–110.

Дорофеюк Н.И. 1985. Диатомовые водоросли донных осадков озера Ачит (МНР). Новости систематики низших растений 22: 37–46.

Дорофеюк Н.И., Цэцэгмаа Д. 2002. Конспект флоры водорослей Монголии. В: Улзийхутаг Н., Гунин П.Д. (ред.). М.: Наука.

Дрововозова Т.И., Кириленко А.А. 2021. Влияние метеорологических факторов на качество природных водных объектов на территории Багаевской оросительной системы. Экология и водное хозяйство 3 (4): 1–13. DOI: 10.31774/2658-7890-2021-3-4-1-13

Задереев Е.С., Дроботов А.В., Толомеев А.П. и др. 2021. Влияние солености и биогенной нагрузки на экосистемы ряда озер юга Сибири. Журнал Сибирского федерального университета. Биология 14 (2): 133–153. DOI: 10.17516/1997-1389-0343

Копылова Ю.Г., Дутова Е.М., Васильев Б.Д. и др. 2005. Путеводитель по природным водам полигона учебных геологических практик в Северной Хакасии. Томск: Изд-во ТПУ.

Макеева Е.Г., Михайлина Н.Р. 2024. Таксономическое разнообразие диатомовых водорослей эпилитона оз. Иткуль (Республика Хакасия). Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии 23 (2): 227–230. DOI: 10.14258/pbssm.2024095

Медведева Л.А. 2023. Эколого-географическая характеристика флоры диатомовых водорослей бассейна реки Зея (Амурская область). Ботанический журнал том 108 (6): 547–565. DOI: 10.31857/S0006813623060054

Митрофанова Е.Ю., Скабичевская Н.А., Ким Г.В. и др. 2007. Флора диатомовых водорослей Телецкого озера (Алтай, Россия). Новости систематики низших растений 41: 41–59. DOI: 10.31111/nsnr/2007.41.41

Науменко Ю.В., Назын Ч.Д. 2023. Водоросли озера Ногаан-Холь (Тыва, Россия). Растительный мир Азиатской России 16 (4): 342–348. DOI: 10.15372/RMAR20230404

Науменко Ю.В., Назын Ч.Д. 2024. Характеристика водорослей озера Азас (Республика Тыва, Россия). Сибирский экологический журнал 4: 604–611.

Николаева З.Н., Николаев А.В. 2014. Особенности изменения количества атмосферных осадков на земледельческой территории Республики Хакасия. Вестник Хакасского государственного университета им. Н.Ф. Катанова 10: 43–45.

Пестрякова Л.А., Слепцова Л.С. 2007. Диатомовыя флора озер Якутии. Вестник ЯГУ 4 (1): 17–22.

Поздняков Н.А. 2025. Анализ климатических изменений в Республике Хакасия. В: Актуальные проблемы экономической безопасности и устойчивого развития территорий: региональный и отраслевой аспекты: материалы межрегиональной студенческой научной конференции 20–21 ноября 2024 года. Красноярск: Красноярский государственный аграрный университет, С. 113–115. URL: https://kgau.ru/science/konferentsii/content3/99.pdf (дата обращения: 15.04.2026)

Покровский Д.С., Дутова Е.М., Булатов А.А. и др. 2001. Подземные воды Республики Хакасия и водоснабжение населения. В: Покровский Д.С. (ред.). Томск: Изд-во НТЛ.

Попова Т.Г. 1946. К познанию альгофлоры водоемов Северной Хакасии. Ч. I. Альгофлора водоемов Ширинской (Качинской) степи. Известия Западно-Сибирского филиала Академии наук СССР. Серия биологическая 1 (2): 41–72.

Природные воды Ширинского района Республики Хакасия. 2003. В: Парначев В.П. (ред.). Томск: Изд-во Томск. гос. ун-та.

Савичев О.Г., Гусева Н.В., Абдуллаев Б.Д. 2015. Водный баланс системы озер Шира-Иткуль (Хакасия). Вестник Томского государственного университета 391: 214–219. DOI: 10.17223/15617793/391/34

Стенина А.С. 2009. Диатомовые водоросли (Bacillariophyta) в озерах востока Большеземельской тундры. Сыктывкар: Коми НЦ УрО РАН.

Танзыбаев М.Г. 1993. Почвы Хакасии. Новосибирск: Наука.

Фитопланктон Омского Прииртышья: монография. 2019. В: Баженова О.П. (ред.). Омск: Изд-во ФГБОУ ВО Омский ГАУ.

Хедаириа Т., Охапкин А.Г., Генкал С.И. и др. 2022. Таксономический состав и экологическая характеристика диатомовых водорослей альгоценозов бентали устья крупной эвтрофно-гипертрофной реки (р. Ока, Россия). Биология внутренних вод 4: 372–380. DOI: 10.31857/S032096522204012X

Чекрыжева Т.А. 2012. Таксономическая и экологическая характеристика фитопланктона Онежского озера. Труды Карельского научного центра РАН 1: 56–69.

Ярушина М.И., Танаева Г.В., Еремкина Т.В. 2004. Флора водорослей водоемов Челябинской области. Екатеринбург: УрО РАН.

Barinova S. 2025. Database of Ecological Indicators of Freshwater Algae and Cyanobacteria. Ecology and Diversity 2 (2): 10003. DOI: 10.70322/ecoldivers.2025.10003

Guiry M.D., Guiry G.M. 2026. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. URL: https://www.algaebase.org (дата обращения: 26.03.2026)

Parnachev V.P., Degermendzhy A.G. 2002. Geographical, geological and hydrochemical distribution of saline lakes in Khakasia, Southern Siberia. Aquatic Ecology 36: 107–122. DOI: 10.1023/A:1015670130522

Pavlov P., Jovanovska J., Wetzel C.E. et al. 2016. Freshwater *Mastogloia* (Bacillariophyceae) taxa from Macedonia, with a description of the epizoic *M. sterijovskii* sp. nov. Diatom Research 31 (2): 85–112. DOI:

10.1080/0269249X.2016.1157376

Pestryakova L.A., Herzschuh U., Gorodnichev R. et al. 2018. The sensitivity of diatom taxa from Yakutian lakes (north-eastern Siberia) to electrical conductivity and other environmental variables. Polar Research 37: 1485625. DOI: 10.1080/17518369.2018.1485625

Stenger-Kovács C., Béres V.B., Buczkó K. et al. 2023. Diatom community response to inland water salinization: a review. Hydrobiologia 850: 4627–4663. DOI: 10.1007/s10750-023-05167-w

Ziemann H. 1997. The infuence of diferent ion ratios on the biological effect of salinity in running waters of Thuringia (Germany). Limnologica 27: 19–28.

Zimmermann-Timm H. 2007. Salinisation of inland waters. In: Lozán J.L., Grassl H., Hupfer P., Menzel L. & Schönwiese C.-D. (Eds.), Global Change: Enough water for all? Hamburg: Verlag Wissenschaftliche Auswertungen/GEO, pp. 133–136.

Original Article

First records of members of the genus *Coelastrella* (Chlorophyta) in tundra soils of Duvanny Yar (Sakha Republic, Russia)

Krivina E.[1]*, Khazanova K.[2]

[1] *G.K. Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences, Prospekt Nauki 5, Pushchino, 142290, Russia*
[2] *Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory 1, Moscow, 119991, Russia*

ABSTRACT. The present study provides the results of morphological, molecular genetic, and biochemical analyses of six strains of green microalgae belonging to the genus *Coelastrella*, isolated from tundra soils of Duvanny Yar, a key reference section of Upper Pleistocene deposits on the right bank of the Kolyma River in the Nizhnekolymsky District of the Republic of Sakha (Russia). Strains were identified using light microscopy and molecular phylogenetic analysis based on internal transcribed spacer ITS2 sequences. Three strains, D2_3c1, D4_8k, and D7_11k, were identified as *C. affinis*; two strains, D2_6a2 and D4_1/5, –as *C. polaris*; and one strain, D4_4/5, –as *C. multistriata*. These findings represent the first documented evidence of the presence of these three species in modern soils of Duvanny Yar. Fatty acid profile analysis revealed that α-linolenic acid dominated in all studied strains, with its concentrations ranging from 35% to 42% of the total fatty acid pool. The highest values were recorded in *C. polaris* strains (40.4–42.1%). *C. polaris* and *C. affinis* strains also exhibited high concentrtions of palmitic (20–23%) and linoleic (9–12%) acids. Strain *C. multistriata* D4_4/5 showed significant accumulation of 7,10,13-hexadecatrienoic acid (16%), the concentration of which was 1.6–3.3 times higher than in the other studied strains. The obtained results expand our understanding of the species diversity of the genus *Coelastrella* in Arctic ecosystems and demonstrate the significant biotechnological potential of the isolated strains as producers of polyunsaturated fatty acids for applications in aquaculture and the food industry.

Keywords: Far North, green algae, morphology, phylogeny, fatty acids

For citation: Krivina E., Khazanova K. First records of members of the genus *Coelastrella* (Chlorophyta) in tundra soils of Duvanny Yar (Sakha Republic, Russia) // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - P. 391-404. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-391

1. Introduction

The genus *Coelastrella*, with the type species *C. striolata*, was described by R.I. Chodat in 1922 and placed within the family Scenedesmaceae (Chlorophyceae, Chlorophyta) (Chodat, 1922; Kalina and Punčochářová, 1987; Novakovskaya et al., 2025). The original description was based solely on light microscopy data. However, accurate identification of representatives of this genus based only on morphological characters is not always possible, as they exhibit heterogeneity. Cell shape varies from oval and spherical to lemon-shaped. Meridional ribs and polar thickenings at the cell poles may be pronounced or absent. In most species, cells are solitary, but some show small temporary aggregations of cells or colonies, i.e. “cell aggregates” (Kalina and Punčochářová, 1987; Wang et al., 2019; Kawasaki et al., 2020; Wang et al., 2021; Nikulin et al., 2025; Novakovskaya et al., 2025). This genus has a complex taxonomic history and has undergone several revisions based on morphological or molecular data. As a result, some species originally assigned to the genera *Cryptodesmus*, *Scenedesmus*, *Scotiellopsis* (Scenedesmaceae), *Scotiella* (Oocystaceae), and others have been transferred to the genus *Coelastrella* (Kalina and Punčochářová, 1987; Novis and Visnovsky, 2012; Kaufnerová and Eliáš, 2013; Ancona-Canché et al., 2017; Krivina et al., 2024). Currently, the genus includes 23 species (Guiry and Guiry, 2026). At the same time, nucleotide sequences of the 18S rRNA gene

*Corresponding author. E-mail address: pepelisa@yandex.ru (E. Krivina)

Received: July 01, 2026;
Accepted after revised: July 29, 2026;
Available online: August 28, 2026

© Author(s) 2026. This work is distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

and the internal transcribed spacers ITS1 and ITS2 are known for only 20 species, which somewhat complicates the study of the species diversity of these algae.

Members of this genus are widely distributed around the world and occur on all continents. They are found in soil, water bodies, as part of biological crusts and biofilms on various substrates, and can act as epiphytes of lichens and phycobionts. Many of them are cosmopolitan and are characterized by a wide range of temperature tolerance—from the boreal zone of the Arctic to tropical regions (Wang et al., 2019; Kawasaki et al., 2020; Novakovskaya et al., 2025). However, our knowledge of the species composition of polar algae remains fragmentary, including the ecosystems of the Russian Far North. Duvanny Yar is a unique natural site. It is one of the world's largest exposures of Yedoma (Pleistocene Ice Complex) on the right bank of the Kolyma River in the Nizhnekolymsky District of the Sakha Republic. Its extent reaches 8–10 km, and the thickness of the exposed deposits is up to 50 m. It is one of the key sites (stratotype) for the study of permafrost, Yedoma deposits, and the history of the region. However, information on the species richness of algae in modern soils and their biotechnological potential is practically absent. The available information concerns mainly phototrophic microorganisms isolated from permafrost deposits (Vishnivetskaya et al., 2001; 2020; Vishnivetskaya, 2009).

The study of new *Coelastrella* strains, first isolated from modern soils of Duvanny Yar, is of not only purely scientific but also practical interest. The ability of ***Coelastrella*** members to accumulate fatty acids and carotenoids, especially under stress conditions, is well known. Many strains of this genus are rich in polyunsaturated fatty acids, including α-linolenic acid—an essential component of a balanced, healthy human diet (Minyuk et al., 2017; Goecke et al., 2020; Maltsev et al., 2021).

Here, we present the results of a study of six *Coelastrella* strains isolated from tundra soils of Duvanny Yar (Republic of Sakha, Russia).

2. Materials and methods

2.1. Study object

The study object was six strains of green algae isolated from soils of Duvanny Yar (Sakha Republic, Russia). This area is located at the boundary between the southern tundra and the forest-tundra of the Kolyma Lowland and is characterized by a mosaic of tundra and sparse larch communities. The climate is sharply continental, of Arctic type, with a long cold winter and a short cool summer. The average January temperature is −30…−35 °C; July temperature is +10…+14 °C, and annual precipitation is low, ~150–250 mm, with permafrost being widespread. This region is characterized by polygonal cryogenic microrelief (biogenic hummocks and cracks associated with ice-wedge occurrence), formed under permafrost conditions. Strain D7_11k was isolated from peat-cryozem, while strains D2_3c1, D2_6a2, D4_8k, D4_1/5, and D4_4/5 were isolated from gleyic peat-cryozem. Sampling was carried out in September 2019. Soil samples, including peat and litter, were taken from the upper A1 horizon (0–10 cm depth). The material was collected during the period of maximum seasonal thawing. Samples were placed in sealed sterile bags, stored, and transported at −20 °C.

2.2. Isolation and cultivation of microalgal strains

Algal strains were isolated using the enrichment method in water-soil and Petri dish cultures, as well as by plating soil suspensions on liquid and agarized BG-11 media. Monocultures were obtained by streak plating, followed by the isolation of individual colonies using a Pasteur pipette. The studied strains were then cultivated on solid BG-11 medium (1% agar; pH 7.2) in a climatostat under standard conditions (temperature 21–23°C; light intensity 60–75 μmol photons m–2 s–1; photoperiod 12 h).

2.3. Light microscopy

Morphology and life cycles of the studied strains were examined by light microscopy using a Leica DM750 microscope (Germany). Observation results were documented with photographs taken using a Leica Flexacam C3 color digital camera (Germany). Observation periods ranged from 1 week to 12 months. Morphological identification of algal strains encompassed important diagnostic characters such as thallus organization type, cell shape and size, presence of polar thickenings and ribs, ability to form cell aggregates, number and type of chloroplasts, presence of pyrenoid, presence and thickness of mucous sheaths, mode of reproduction, etc. Morphometric measurements were performed using Leica Application Suite X software. For size comparison, at least 100 cells of each strain were measured. The algal classification system adopted in the international electronic database AlgaeBase (Guiry and Guiry, 2026) was used as the basis for this study.

2.4. Total DNA isolation, amplification, purification, and amplicon sequencing

For molecular genetic identification of strains, the second internal transcribed spacer ITS2 was used as a DNA barcode. Total DNA was extracted from strains using the "PhytoSorb" kit ("Syntol", Russia) following the manufacturer's protocol. For amplification, the ready-to-use mixture Screen Mix-HS ("Evrogen", Russia) was used. Conditions and primers for ITS2 amplification are specified in Johnson et al. (2007): ITS–AF 5′-CGTTTCCGTAGGTGAACCTGC-3′, ITS–BR 5′- CATATGCTTAAGTTCAGCGGG-3′ (95°C, 3 min; 95°C (30 sec), 57.6°C (30 sec), 72°C (1 min), 35 cycles; 72°C, 10 min). Target PCR products were detected electrophoretically in a 1% agarose gel. Amplicons were purified from the gel using the Cleanup Standard kit ("Evrogen", Russia). Sequencing was performed at the commercial company "Evrogen" (Russia).

2.5. Molecular phylogenetic analysis

For molecular genetic identification of microalgal strains, a homology search of ITS2 nucleotide sequences was performed using the BLASTn algorithm in GenBank NCBI (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov). Sequence selection was based on criteria of maximum similarity (≥ 95%), read quality (no degenerate or unknown nucleotides), read length, and belonging to type species and authenticated collection strains. Multiple alignment was performed using MAFFT ver. 7 (Katoh et al., 2019). Nucleotide substitution models were selected using IQ-TREE v. 2.2, based on the minimum BIC (Bayesian information criterion) value. Phylogenetic reconstruction using maximum likelihood (ML) was performed in PhyML, with Bayesian inference (BI) using the software package BEAST v10.5.0 (Baele et al., 2025). SH-aLRT (Shimodaira-Hasegawa-like approximate likelihood ratio test), ML bootstrap (BP), and BI posterior probabilities (PP) were indicated as statistical support for tree nodes. Convergence of runs and sufficient sampling were checked in Tracer v1.7 (Rambaut et al., 2018), ensuring that all parameters reached effective sample size (ESS) > 200. Phylogenetic trees were visualized in FigTree v. 1.3.1. Differences between nucleotide sequences were characterized using genetic differences, measured as the percentage of nucleotide mismatches in pairwise comparisons of aligned sequences and calculated in MEGA 11 using the Kimura 2-parameter model (complete deletion) (Tamura et al., 2021).

2.6. Fatty acid composition analysis

To determine the fatty acid (FA) composition of total lipids, pre-fixed biomass was saponified with 1M aqueous-alcoholic alkali (80%), and non-saponifiable components were washed from free FAs with n-hexane. Free FAs were obtained by adding 20% sulfuric acid, extracted with n-hexane, and methylated. Fatty acid methyl esters were analyzed on a Chromatec Crystal 5000.2 NP instrument with a quadrupole MS detector and a Restek Rtx-2330 column (60 m, cat. No. 10726). Total lipids were estimated by the number of esterified FAs per 1 g of dry cell mass. The internal standard was margaric acid. Measurements were performed in three biological replicates (Krivina et al., 2024).

3. Results

All studied strains exhibited *Coelastrella*-like morphology (Fig. 1 A–F, Table 1). Strain D4_4/5 was characterized by ovoid, oval, and round cells with numerous ribs but without apical thickenings (Fig. 1A). Cells of strains D2_6a2 and D4_1/5 were spherical, oval, or broadly oval; ribs and polar thickenings were absent (Fig. 1 B, C). Strains D2_3c1, D4_8k, and D7_11k had solitary, oval, or lemon-shaped cells with eight ribs, with and without polar thickenings at the cell poles (Fig. 1 D–F). Cells of strains D2_3c1, D4_8k, D7_11k, D2_6a2, and D4_1/5 were slightly larger than those of strain D4_4/5 (4–11 × 3–10 μm). The chloroplast in young cells of all strains was parietal; in mature cells it disintegrated into disc-shaped plates. There was one pyrenoid with a starch sheath composed of several shells. The number of autospores in strain D4_4/5 reached 16, whereas in other strains it did not exceed 8.

According to the results of molecular genetic analysis using the internal transcribed spacer ITS2 as a phylogenetic marker, all studied strains fell within the genus *Coelastrella* (Fig. 2). Strains D2_3c1, D4_8k, and D7_11k clustered with maximum statistical support with the authenticated strain *C. affinis* VKM Al-356. Genetic distances between them and VKM Al-356 ranged from 0 to 0.8%. Strains D2_6a2 and D4_1/5 formed a single group with the authenticated strain *C. polaris* VKM Al-421 (SH-aLRT–99%, BP–100%, PP – 1.00), and genetic differences did not exceed 0.4%. Strain D4_4/5 fell within a single cluster with the authenticated strain *C. multistriata* CCALA 309 (SH-aLRT–96%, BP–99%, PP–1.00), with genetic distances between them of 0.4%.

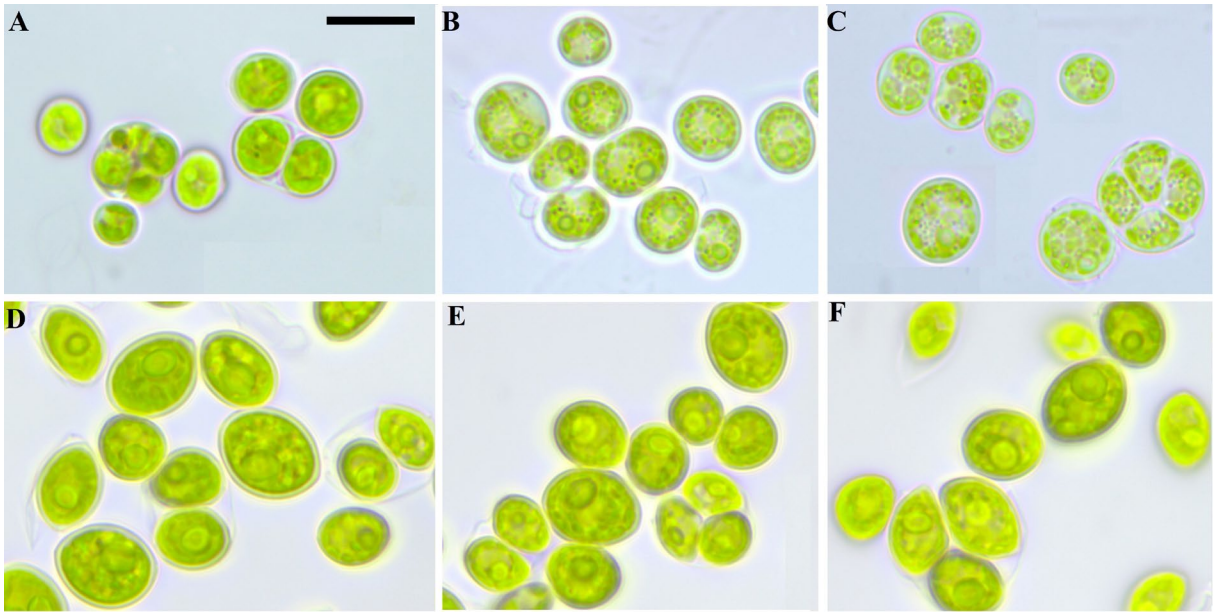


Fig.1. Morphology of the studied strains of the genus *Coelastrella*: (A) *C. multistriata* D4_4/5; (B) *C. polaris* D2_6a2; (C) *C. polaris* D4_1/5; (D) *C. affinis* D2_3c1, (E) *C. affinis* D4_8k; (F) *C. affinis* D7_11k. Scale bar: 10 μm.

Table 1. Morphological characteristics of the studied strains

	Ribs	Apical thickening	Cell aggregates	Cell shape	Cell size, μm	Chloroplast	Number of autospores
C. multistriata D4_4/5	yes	no	sometimes yes	ovoid, ellipsoidal to globose	4–11 × 3–10	parietal, divided into plate-like segments one of which contains a pyrenoid with starch envelope	2–16
C. affinis D2_3c1, D4_8k, D7_11k	yes	sometimes spindle shape, with and without polar thickenings	no	broadly oval, fusiform or citriform	6–16 × 4–8	parietal, divided into plate-like segments; single pyrenoid is surrounded by two starch grains and a thylakoid bundle	2–8
C. polaris D2_6a2 и D4_1/5	no	no	no	oval, broadly oval, globose	6–16 × 4–10	in young cells was parietal, in mature cells in the form of disk-shaped plates	2–8

Analysis of the fatty acid (FA) profile showed that α-linolenic acid (18:3Δ9,12,15), which belongs to the group of essential omega-3 unsaturated FAs, predominated in all studied strains. At the same time, its concentration was highest in members of *C. polaris* (*C. polaris* D2_6a2–40%; D4_1/5–42%) compared to the other strains (*C. affinis* D2_3c1–35%; D4_8k–37%; D7_11k–35%; *C. multistriata* D4_4/5–35%). In members of *C. polaris* and *C. affinis*, palmitic acid (16:0) (20–23%) and linoleic acid (18:2Δ9,12) (9–12%) contributed significantly to the FA profile, while in the strain *C. multistriata* D4_4/5, palmitic acid (19%) and 7,10,13-hexadecatrienoic acid (16:3Δ7,10,13) (16%) were prominent (Table 2).

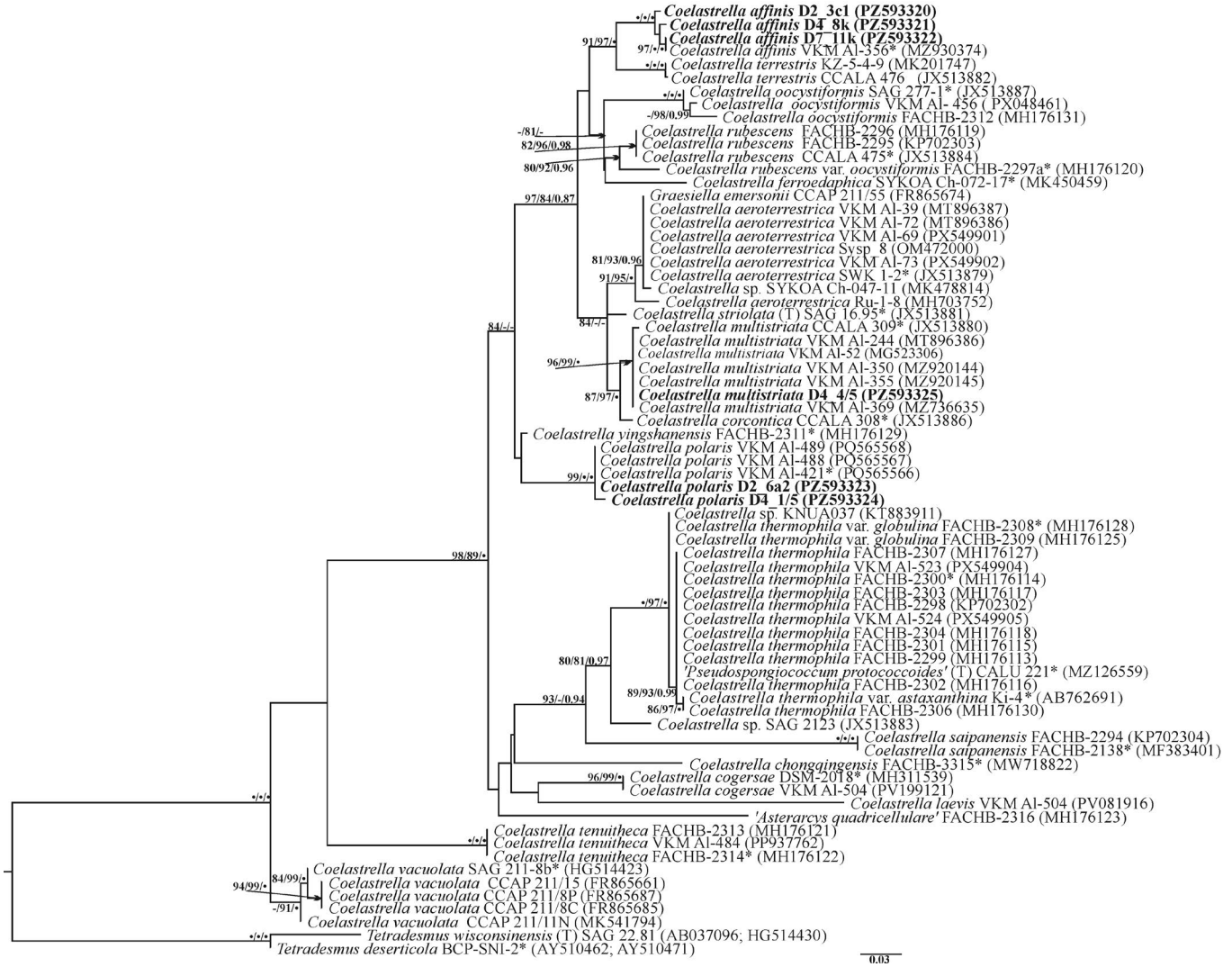


Fig.2. Rooted phylogenetic tree of green algae of the genus *Coelastrella* constructed by Bayesian method based on ITS2 fragment sequences (267 bp). SH-aLRT and BP values below 80% and PP below 0.8 are not shown. Nucleotide substitution model: TIM2 + I + G4. Designations: *–authenticated strain; (T)–type species; •–maximum statistical support. Studied strains are shown in bold.

Table 2. Fatty acid profiles of the studied strains, %

Fatty acids	*C. multistriata* D4_4/5	*C. polaris* D2_6a2	*C. polaris* D4_1/5	*C. affinis* D2_3c1	*C. affinis* D4_8k	*C. affinis* D7_11k
14:0	1.5 ± 0.2	0.4 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.3 ± 0.1
16:0	19.0 ± 0.4	20.4 ± 0.2	22.5 ± 0.4	22 ± 0.3	23 ± 0.4	23 ± 0.2
16:1Δ7	-	-	-	0.5 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.4 ± 0.1
16:1Δ9	1.8 ± 0.1	1.3 ± 0.1	1.2 ± 0.1	0.7 ± 0.2	0.7 ± 0.1	0.7 ± 0.1
16:2Δ7,10	2.4 ± 0.1	1.7 ± 0.1	1.5 ± 0.2	5.4 ± 0.2	4.2 ± 0.1	4.8 ± 0.3
16:3Δ7,10,13	16.0 ± 0.4	4.8 ± 0.3	4.9 ± 0.3	10 ± 0.3	9.8 ± 0.4	9.7 ± 0.3
18:0	2.3 ± 0.3	5.7 ± 0.7	4.7 ± 0.8	3.2 ± 0.4	3 ± 0.2	3.1 ± 0.3
18:1Δ9	7.9 ± 0.1	6.5 ± 0.1	5.6 ± 0.2	7.4 ± 0.1	6.8 ± 0.2	7.0 ± 0.2
18:1 Δ11	6.3 ± 0.1	4.6 ± 0.1	3.6 ± 0.2	2.9 ± 0.1	2.1 ± 0.1	2.7 ± 0.1
18:2Δ9,12	7.1 ± 0.1	9.6 ± 0.1	9 ± 0.1	11.9 ± 0.2	12 ± 0.3	11.7 ± 0.2
18:3Δ9,12,15	35.0 ± 0.9	40.4 ± 0.7	42.1 ± 0.4	35 ± 0.9	37 ± 0.6	35 ± 0.8
21:0	0.3 ± 0.1	-	-	-	-	-
22:0	0.4 ± 0.1	-	-	-	-	-
24:0	-	1.6 ± 0.2	1.6 ± 0.2	0.8 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.8 ± 0.1
26:0	-	2.9 ± 0.9	2.9 ± 0.7	-	-	-

4. Discussion

All studied strains exhibited morphology typical of members of the genus *Coelastrella*: cells oval, spherical, broadly oval, or lemon-shaped; meridional ribs and apical thickenings at the cell poles were present in some strains; the chloroplast was parietal, divided into segments in mature cells; a single pyrenoid with a starch sheath was present; reproduction occurred by autospores (Kalina and Punčochářová, 1987; Kaufnerová and Eliáš, 2013; Wang et al., 2019; Kawasaki et al., 2020; Wang et al., 2021; Nikulin et al., 2025; Novakovskaya et al., 2025). However, due to the morphological heterogeneity of these algae, accurate identification became possible only after molecular genetic analysis using ITS2 as a phylogenetic marker. Strains D2_3c1, D4_8k, and D7_11k were identified as members of *C. affinis*, strains D2_6a2 and D4_1/5–as *C. polaris*, and strain D4_4/5–as *C. multistriata* CCALA 309. No significant morphological differences were found between the studied strains and the typical descriptions of the corresponding species. They clustered with high statistical support with authentic strains of these species. At the same time, the genetic distances within these clusters corresponded to the intraspecific level (D2_3c1, D4_8k, D7_11k and *C. affinis* VKM Al-356–≤0.8%; D2_6a2, D4_1/5 and *C. polaris* VKM Al-421–≤0.4%; *C. multistriata* D4_4/5–0.4%), since the minimum interspecific threshold for ITS2 between *C. multistriata* and *C. concortica* was 1.6%.

As already noted above, members of the genus *Coelastrella* have a wide geographical distribution: from polar to equatorial latitudes (Kalina and Punčochářová, 1987; Mikhailyuk et al., 2019; Kawasaki et al., 2020; Boutarfa et al., 2022). Meanwhile, there are still quite a few blank spots on the map, and Duvanny Yar is one of them. This study presents information on the first findings of the species *C. affinis*, *C. polaris*, and *C. multistriata* in modern soils of this exposure, which serves as a stratotype of the typical Yedoma thickness. The studied strains were soil inhabitants, which is rather typical for members of these species (Kaufnerová and Eliáš, 2013; Wang et al., 2019; Kawasaki et al., 2020; Wang et al., 2021; Krivina et al., 2024; 2025).

Analysis of the fatty acid profile showed that in all studied strains of green algae of the genus *Coelastrella*, α-linolenic acid (ALA, 18:3Δ9,12,15) is the dominant fatty acid, which belongs to the group of essential omega-3 polyunsaturated fatty acids. Its concentration varied from 35% to 42.1% of the total fatty acid pool, which is characteristic of many members of this genus and reflects the high activity of desaturases and elongases responsible for the biosynthesis of polyunsaturated fatty acids (Goecke et al., 2020; Maltsev et al., 2021; Boutarfa et al., 2022; Krivina et al., 2024). At the same time, in members of *C. polaris*, its concentration was the highest among all studied strains: maximum values were recorded in strain D4_1/5 (42.1%) and D2_6a2 (40.4%). Although this is slightly lower than in the authenticated strains *C. polaris* VKM Al-421 (43.4%) and *C. striolata* SAG 16.95 (44.2%), which shows the highest results within the genus (Lang et al., 2011; Krivina et al., 2025), these strains can be promising for biotechnological production of omega-3 fatty acids. In strains of *C. affinis*, the level of α-linolenic acid was slightly lower and remained stable in the 35–37% range (D2_3c1–35%; D4_8k–37%; D7_11k–35%). Moreover, in members of *C. polaris* and *C. affinis*, the concentration of palmitic acid ranged from 20% to 23%, which is typical for green algae, where it performs a structural function in membranes and serves as a substrate for the synthesis of polyunsaturated fatty acids (Lang et al., 2011; Minyuk et al., 2017; Maltsev et al., 2021; Doppler et al., 2022; Krivina et al., 2025). Linoleic acid, belonging to the class of essential omega-6 polyunsaturated fatty acids, was also present in significant amounts: in

C. affinis strains its level reached 11.7–12.0%, and in *C. polaris* strains–9.0–9.6%. The omega-3/omega-6 ratio (approximately 3.5:1 for *C. polaris* and 2.9:1 for *C. affinis*) is physiologically favorable and indicates the high nutritional value of these microalgae for aquaculture and biotechnology (Patterson et al., 2012; Maltsev et al., 2021).

In contrast to the other two species, strain *C. multistriata* D4_4/5 showed a different fatty acid profile, which is close to strain MZ–Ch23 (Maltsev et al., 2021). The concentration of α-linolenic acid in D4_4/5 was 35%, which is comparable to the values of *C. affinis*. At the same time, along with palmitic acid (19%), 7,10,13-hexadecatrienoic acid (16:3Δ7,10,13) constituted a significant proportion, the content of which reached 16%–this value was 1.6–3.3 times higher than in other studied strains (from 4.8% to 10%). 7,10,13-hexadecatrienoic acid, which is a short-chain homolog of α-linolenic acid and belongs to omega-3 polyunsaturated fatty acids, accumulates in the chloroplast membranes of green algae (Heilmann et al., 2004; Lang et al., 2011). It should also be noted that in D4_4/5 the concentration of linoleic acid was minimum (7.1%) compared to other strains, indicating a redistribution of carbon flux toward the synthesis of 16-carbon polyunsaturated fatty acids (16:2 and 16:3) at the expense of 18-carbon omega-6 derivatives.

5. Conclusion

Thus, for the first time in modern soils of Duvanny Yar (Republic of Sakha, Russia), members of three different species of the genus *Coelastrella* were found, and their fatty acid profiles were studied. Strains D2_3c1, D4_8k, and D7_11k belonged to the species *C. affinis*; strains D2_6a2 and D4_1/5–to *C. polaris*; and strain D4_4/5–to *C. multistriata*. All of them have significant biotechnological potential as producers of polyunsaturated fatty acids. The studied *C. polaris* strains are distinguished by maximum production of α-linolenic acid; *C. affinis* strains–by balanced concentrations of α-linolenic and linoleic acids; while *C. multistriata* D4_4/5 is characterized by a relatively high concentration of 7,10,13-hexadecatrienoic acid, which makes it an interesting object for studying adaptation mechanisms and a potential source of rare polyunsaturated fatty acids.

Acknowledgements

The research was supported by the Russian Science Foundation grant No. 25-24-00873, https://rscf.ru/project/25-24-00873/.

Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest.

References

Ancona-Canché K., López-Adrián S., Espinosa-Aguilar M. et al. 2017. Molecular phylogeny and morphologic data of strains of the genus *Coelastrella* (Chlorophyta, Scenedesmaceae) from a tropical region in North America (Yucatan Peninsula). Botanical Sciences 95(3): 527–537. DOI: 10.17129/botsci.1201

Baele G., Ji X., Hassler G.W. et al. 2025. BEAST X for Bayesian phylogenetic, phylogeographic and phylodynamic inference. Nature Methods 22: 1653–1656. DOI: 10.1038/s41592-025-02751-x

Boutarfa S., Senoussi M.M., Gonzalez-Silvera D. et al. 2022. The Green Microalga *Coelastrella thermophila* var. *globulina* (Scenedesmaceae, Chlorophyta) Isolated from an Algerian Hot Spring as a Potential Source of Fatty Acids. Life 12(4): 560. DOI: 10.3390/life12040560

Chodat R. 1922. Matériaux pour l'histoire des algues de la Suisse [Materials for the history of algae in Switzerland]. Bulletin de la Société Botanique de Genève Sér 2(13): 66–114.

Doppler P., Kriechbaum R., Käfer M. et al. 2022. *Coelastrella terrestris* for Adonixanthin Production: Physiological Characterization and Evaluation of Secondary Carotenoid Productivity. Marine Drugs 20(3): 175. DOI: 10.3390/md20030175

Goecke F., Noda J., Paliocha M. et al. 2020. Revision of Coelastrella (Scenedesmaceae, Chlorophyta) and first register of this green coccoid microalga for continental Norway. World Journal of Microbiology and Biotechnology 36(10): 149. DOI: 10.1007/s11274-020-02897-0

Guiry M.D., Guiry G.M. 2026. AlgaeBase. World-wide electronic publication, University of Galway. URL: https://www.algaebase.org Accessed 29 June 2026

Heilmann I., Mekhedov S., King B. et al. 2004. Identification of the Arabidopsis palmitoyl-monogalactosyldiacylglycerol Δ7-desaturase gene FAD5, and effects of plastidial retargeting of Arabidopsis desaturases on the fad5 mutant phenotype. Plant Physiology 136(4): 4237–4245. DOI: 10.1104/pp.104.052951

Johnson J.L., Fawley M.W., Fawley K.P. 2007. The diversity of Scenedesmus and Desmodesmus (Chlorophyceae) in Itasca State Park, Minnesota, USA. Phycologia 46(2): 214–229. DOI: 10.2216/05-69.1

Kalina T., Punčochářová M. 1987. Taxonomy of the subfamily Scotiellocystoideae Fott 1976 (Chlorellaceae, Chlorophyceae). Algological Studies 45: 473–521.

Katoh K., Rozewicki J., Yamada K.D. 2019. MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. Briefings in Bioinformatics 20(4): 1160–1166. DOI: 10.1093/bib/bbx108

Kaufnerová V., Eliáš M. 2013. The demise of the genus *Scotiellopsis* Vinatzer (Chlorophyta). Nova Hedwigia 97(3-4): 415–428. DOI: 10.1127/0029-5035/2013/0116

Kawasaki S., Yoshida R., Ohkoshi K. et al. 2020. *Coelastrella astaxanthina* sp. nov. (Sphaeropleales, Chlorophyceae), a novel microalga isolated from an asphalt surface in midsummer in Japan. Phycological Research 67(2): 107–114. DOI: 10.1111/pre.12412

Krivina E., Sinetova M., Starikov A. et al. 2025. Testing the Effectiveness of DNA Barcoding Markers and Species Delimitation Methods Within the Genus *Coelastrell* (Sphaeropleales, Chlorophyta), With a Description of *Coelastrella polaris* sp. nov. Isolated from Arctic Soils. Current Microbiology 82: 311. DOI: 10.1007/s00284-025-04293-z

Krivina E., Sinetova M., Zadneprovskaya E. et al. 2024. The genus *Coelastrella* (Chlorophyceae, Chlorophyta): molecular species delimitation, biotechnological potential, and description of a new species *Coelastrella affinis* sp. nov., based on an integrative taxonomic approach. Antonie van Leeuwenhoek 117(1): 113. DOI: 10.1007/s10482-024-02008-1

Lang I., Hodac L., Friedl T. et al. 2011. Fatty acid profiles and their distribution patterns in microalgae: A comprehensive analysis of more than 2000 strains from the SAG culture collection. BMC Plant Biology 11: 124. DOI: 10.1186/1471-2229-11-124

Maltsev Y., Krivova Z., Maltseva S. et al. 2021. Lipid accumulation by Coelastrella multistriata (Scenedesmaceae, Sphaeropleales) during nitrogen and phosphorus starvation. Scientific Reports 11(1): 19818. DOI: 10.1038/s41598-021-99376-9

Mikhailyuk T., Glaser K., Tsarenko P. et al. 2019. Composition of biological soil crusts from sand dunes of the Baltic Sea coast in the context of an integrative approach to the taxonomy of microalgae and cyanobacteria. European Journal of Phycology 54(3): 263–290. DOI: 10.1080/09670262.2018.1557257

Minyuk G.S., Chelebieva E.S., Chubchikova I.N. et al. 2017. Stress-induced secondary carotenogenesis in Coelastrella rubescens (Scenedesmaceae, Chlorophyta), a producer of value-added keto-carotenoids. Algae 32(3): 245–259. DOI: 10.4490/algae.2017.32.8.6

Nikulin V.Y., Sushchenko R.Z., Abdullin S.R. et al. 2025. *Coelastrella laevis* sp. nov. (Chlorophyta, Sphaeropleales) from the soils of the Russian Far East. Phycologia 64(5): 420–428. DOI: 10.1080/00318884.2025.2562622

Novakovskaya I.V., Dymova O.V., Shadrin D.M. et al. 2025. Carotenoids and fatty acids composition of *Coelastrella ferroedaphica* sp. nov. (Chlorophyta, Scenedesmaceae). Russian Journal of Plant Physiology 72(163): 1–13. DOI: 10.1134/s1021443725602289

Novis P.M., Visnovsky G. 2012. Novel alpine algae from New Zealand: Chlorophyta. Phytotaxa 39: 1–30. DOI: 10.11646/phytotaxa.39.1.1

Patterson E., Wall R., Fitzgerald G.F. et al. 2012. Health implications of high dietary omega-6 polyunsaturated Fatty acids. Journal of Nutrition and Metabolism 2012: 539426. DOI: 10.1155/2012/539426

Rambaut A., Drummond A.J., Xie D. et al. 2018. Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. Systematic Biology 67(5): 901–904. DOI: 10.1093/sysbio/syy032

Tamura K., Stecher G., Kumar S. 2021. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. Molecular Biology and Evolution 38(7): 3022–3027. DOI: 10.1093/molbev/msab120

Vishnivetskaya T.A. 2009. Viable Cyanobacteria and Green Algae from the Permafrost Darkness. In: Margesin R. (Ed.), Permafrost Soils. Soil Biology, Vol. 16. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 1–20. DOI: 10.1007/978-3-540-69371-0 6

Vishnivetskaya T.A., Almatari A.L., Spirina E.V. et al. 2020. Insights into community of photosynthetic microorganisms from permafrost. FEMS Microbiology Ecology 96(12): fiaa229. DOI: 10.1093/femsec/fiaa229

Vishnivetskaya T.A., Erokhina L.G., Spirina E.V. et al. 2001. Ancient viable phototrophs within the permafrost. Nova Hedwigia 123: 427–442.

Wang Q., Song H., Liu X. et al. 2019. Morphology and molecular phylogeny of coccoid green alga *Coelastrella* sensu lato (Scenedesmaceae, Sphaeropleales), including the description of three new species and two new varieties. Journal of Phycology 55(6): 1290–1305. DOI: 10.1111/jpy.12915

Wang Q.-H., Song H.-Y., Xiu X.-D. et al. 2021. *Coelastrella chongqingensis* sp. nov., a novel species of the subaerial coccoid green algae within the *Coelastrella* (Scenedesmaceae, Sphaeropleales). Acta Hydrobiologica Sinica 45(6): 1351–1360.

Оригинальная статья

Первые находки представителей рода *Coelastrella* (Chlorophyta) в тундровых почвах Дуванного Яра (Республика Саха, Россия)

Кривина Е.С.[1]*, Хазанова К.П.[2]

[1] *Всероссийская коллекция микроорганизмов, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, ФИЦ ПНЦБИ РАН, Проспект Науки, 5, г. Пущино, 142290, Россия*
[2] *Московский государственный университет, Ленинские горы, 1, г. Москва, 119991, Россия*

АННОТАЦИЯ. В работе представлены результаты морфологического, молекулярно-генетического и биохимического анализа шести штаммов зелёных водорослей рода *Coelastrella*, изолированных из тундровых почв Дуванного Яра, опорного разреза верхнеплейстоценовых отложений на правом берегу реки Колымы в Нижнеколымском районе Республики Саха (Россия). Идентификация штаммов проводилась с использованием световой микроскопии и молекулярно-филогенетического анализа на основе последовательностей внутреннего транскрибируемого спейсера ITS2. Установлено, что три штамма D2_3c1, D4_8k, D7_11k принадлежат к виду *C. affinis*, два штамма D2_6a2, D4_1/5 – к виду *C. polaris*, и один штамм D4_4/5 – к виду *C. multistriata*. Данные находки являются первым документальным подтверждением присутствия этих трёх видов в современных почвах Дуванного Яра. Анализ профиля жирных кислот показал, что во всех исследуемых штаммах доминирует α-линоленовая кислота, содержание которой варьировало от 35 до 42% от общего пула жирных кислот. Максимальные значения зафиксированы у штаммов *C. polaris* (40,4–42,1%). У штаммов *C. polaris* и *C. affinis* отмечается также высокое содержание пальмитиновой (20–23%) и линолевой (9–12%) кислот. Штамм *C. multistriata* D4_4/5 характеризуется значительным накоплением 7,10,13-гексадекатриеновой кислоты (16%), содержание которой в 1,6–3,3 раза выше, чем у других изученных штаммов. Полученные результаты расширяют представления о видовом разнообразии рода *Coelastrella* в арктических экосистемах и демонстрируют значительный биотехнологический потенциал выделенных штаммов как продуцентов полиненасыщенных жирных кислот для применения в аквакультуре и пищевой промышленности.

Ключевые слова: Крайний Север, зеленые водоросли, морфология, филогения, жирные кислоты

Для цитирования: Кривина Е.С., Хазанова К.П. Первые находки представителей рода *Coelastrella* (Chlorophyta) в тундровых почвах Дуванного Яра (Республика Саха, Россия) // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - С. 391-404. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-391

1. Введение

Род *Coelastrella* с типовым видом *C. striolata* был описан R.I. Chodat в 1922 году и вошел в состав семейства Scenedesmaceae (Chlorophyceae, Chlorophyta) (Chodat, 1922; Kalina and Punčochářová, 1987; Novakovskaya et al., 2025). Первоначальное описание было составлено исключительно на данных световой микроскопии. Однако верная идентификация представителей этого рода только на основе анализа морфологических признаков не всегда возможна, поскольку им свойственна гетерогенность. Форма клеток варьирует от овальной и шаровидной до лимоновидной. Меридиональные рёбра и полярные утолщения на полюсах клеток могут быть как ярко выражены, так и отсутствовать. У большинства видов клетки одиночные, но у некоторых отмечаются небольшие временные скопления клеток или колонии, т.е. так называемые «клеточные агрегаты» (Kalina and Punčochářová, 1987; Wang et al., 2019; Kawasaki et al., 2020; Wang et al., 2021; Nikulin et al., 2025; Novakovskaya et al., 2025). Этот род имеет сложную таксономическую историю и претерпел несколько ревизий на основе морфологических или молекулярных данных. В результате некоторые виды, первоначально отнесенные к родам *Cryptodesmus, Scenedesmus, Scotiellopsis* (*Scenedesmaceae*), *Scotiella* (Oocystaceae), *Graesiella*

*Автор для переписки. Адрес e-mail: pepelisa@yandex.ru (Е.С. Кривина)

Поступила: 01 июля 2026;
Принята после доработки: 29 июля 2026;
Опубликована online: 28 августа 2026

© Автор(ы) 2026. Эта работа распространяется под международной лицензией Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.

(Chlamydomonadales incertae sedis) и др., были перенесены в род *Coelastrella* (Kalina and Punčochářová, 1987; Novis and Visnovsky, 2012; Kaufnerová and Eliáš, 2013; Ancona-Canché et al., 2017; Krivina et al., 2024). В настоящее время род включает 23 вида (Guiry and Guiry, 2026). В то же время нуклеотидные последовательности гена 18S рРНК и внутренних транскрибируемых спейсеров ITS1 и ITS2 известны только для 20 видов, что несколько затрудняет изучение видового разнообразия этих водорослей.

Представители этого рода широко распространены по всему миру и на всех континентах. Они встречаются в почве, водоемах, в составе биокорочек и биопленок на различных субстратах, могут выступать в роли эпифитов лишайников и фикобионтов. Многие из них являются космополитами и характеризуются широким диапазоном температурной устойчивости – от бореальной зоны Арктики до тропических регионов (Wang et al., 2019; Kawasaki et al., 2020; Novakovskaya et al., 2025). Вместе с тем, наши знания о видовом составе полярных водорослей остаются фрагментарными, в т.ч. в отношении экосистем Крайнего Севера России. Дуванный Яр представляет уникальный природный объект. Это одно из крупнейших в мире обнажений едомы (ледового комплекса плейстоценового возраста), расположенное на правом берегу реки Колымы в Нижнеколымском районе Республики Саха. Его протяженность достигает 8–10 км, а мощность вскрываемых отложений – до 50 м. Это один из ключевых объектов (стратотип) для изучения вечной мерзлоты, едомных отложений и истории региона. Однако сведения о видовом богатстве водорослей современных почв и их биотехнологическом потенциале практически отсутствуют. Имеющаяся информация касается преимущественно фототрофных микроорганизмов, выделенных из многолетнемерзлых отложений (Vishnivetskaya et al., 2001; 2020; Vishnivetskaya, 2009).

Исследование новых штаммов *Coelastrella*, впервые изолированных из современных почв Дуванного Яра, имеет не только сугубо научный, но и практический интерес. Хорошо известна способность представителей *Coelastrella* накапливать жирные кислоты и каротиноиды, особенно с условиях стресса. Многие штаммы этого рода богаты полиненасыщенными жирными кислотами, включая α-линоленовую кислоту — незаменимый компонент сбалансированного здорового питания человека (Minyuk et al., 2017; Goecke et al., 2020; Maltsev et al., 2021).

В настоящей работе представлены результаты исследования шести штаммов *Coelastrella*, изолированных из тундровых почв Дуванного Яра (Республика Саха, Россия).

2. Материалы и методы

2.1. Объекты исследования

Объектами исследования стали 6 штаммов зеленых водорослей, изолированных из почв Дуванного Яра (Республика Саха, Россия). Данная территория расположена на границе южной тундры и лесотундры Колымской низменности и характеризуется мозаикой тундровых и редкостойных лиственничных сообществ. Климат резко континентальный, арктического типа, с длительной холодной зимой и коротким прохладным летом. Средняя температура января составляет −30… −35 ˚С, июля – +10…+14 ˚С, годовое количество осадков невелико и составляет около 150–250 мм, при этом повсеместно распространена многолетняя мерзлота. Данный регион характеризуется полигональным криогенным микрорельефом (биогенные кочки и трещины, приуроченные к залеганию ледяных жил), сформированным в условиях многолетней мерзлоты. Штамм D7_11k выделен из торфяно-криозема, штаммы D2_3c1, D2_6a2, D4_8k, D4_1/5, D4_4/5 – из торфяно-криозема глеевато-го. Пробоотбор проводили в сентябре 2019 года. Образцы почвы, включая торф и подстилку, были взяты из верхнего горизонта A1 (глубина 0-10 см). Материал был собран в период максимального сезонного оттаивания. Образцы помещали в герметичные стерильные пакеты, хранили и транспортировали при температуре -20˚С.

2.2. Изоляция и культивирование штаммов микроводорослей

Штаммы водорослей выделяли с помощью метода накопительных водно-почвенных и чашечных культур, а также с помощью посевов почвенной суспензии на жидкие и агаризованные среды BG-11. Монокультуры были получены путем посева штрихом с последующей изоляцией отдельных колоний с помощью пипетки Пастера. Далее исследуемые штаммы культивировали на твердой питательной среде BG-11 (1% агар, pH = 7,2) в климатостате при стандартных условиях (температура 21–23˚С, интенсивность освещения 60–75 мкмоль фотонов м–2 с–1, фотопериод 12 ч).

2.3. Световая микроскопия

Морфологию и жизненные циклы исследуемых штаммов изучали методом световой микроскопии с помощью микроскопа Leica DM750 (Германия). Результаты наблюдений документированы фотографиями, снятыми с помощью цветной цифровой камеры Leica Flexacam C3 (Германия). Сроки наблюдения составляли от 1 недели до 12 месяцев. При морфологической идентификации штаммов водорослей учитывали важные диакритические признаки, такие как тип организации таллома, форма и размеры клеток, наличие полярных утолщений и ребер, способность формировать клеточные аггрегаты, количество и тип хлоропласта, присутствие пиреноида, наличие и толщина слизистых оболочек, способ размножения и др. Для морфометрических измерений использовали программу Leica Application Suite X. Для сравнения размеров измеряли не менее 100 клеток каждого штамма. За основу в данной работе выбрана система водорослей, принятая в международной электронной базе данных Algae Base (Guiry and Guiry, 2026).

2.4. Выделение тотальной ДНК, амплификация, очистка и секвенирование ампликонов

Для молекулярно-генетической идентификации штаммов в качестве ДНК-баркода использовали внутренний транскрибируемый спейсер ITS2. Суммарную ДНК из штаммов выделяли с помощью набора «ФитоСорб» («Синтол», Россия), следуя протоколу производителя. Для амплификации использовали готовую смесь Screen Mix-HS («Евроген», Россия). Условия и праймеры для амплификации ITS2 указаны в статье Johnson et al. (2007): ITS–AF 5′-CGTTTCCGTAGGTGAACCTGC-3′, ITS–BR 5′-CATATGCTTAAGTTCAGCGGG-3′ (95°C, 3 мин; 95°C (30 с), 57,6°C (30 с), 72°C (1 мин), 35 циклов; 72°C, 10 мин). Детекцию целевых ПЦР-продуктов проводили электрофоретически в 1%-ном агарозном геле. Очистка ампликонов из геля проводилась с помощью набора Cleanup Standard («Евроген», Россия). Секвенирование проводилось на базе коммерческой компании «Евроген» (Россия).

2.5. Молекулярно-филогенетический анализ

Для молекулярно-генетической идентификации штаммов микроводорослей был осуществлен поиск гомологии нуклеотидных последовательностей ITS2 по алгоритму BLASTn в GenBank NCBI (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov). Отбор последовательностей осуществляли исходя из критериев максимального родства (сходство ≥ 95%), качества прочтения (без вырожденных и неизвестных нуклеотидов), длины прочтения и принадлежности к типовым видам и коллекционным аутентичным штаммам. Множественное выравнивание было выполнено в программе MAFFT ver. 7 (Katoh et al., 2019). Выбор нуклеотидных замен осуществляли с помощью программы IQ-TREE v. 2.2, ориентируясь на минимальное значение BIC критерия (Bayesian information criterion). Реконструкцию филогенетических взаимосвязей с помощью метода максимального правдоподобия (ML) осуществляли в программе PhyML, с использованием байесовского вывода (BI) – с использованием программного пакета BEAST v10.5.0 (Baele et al., 2025). В качестве статистической поддержки узлов дерева указаны значения SH-aLRT (SH-aLRT – Shimodaira-Hasegawa-like approximate likelihood ratio test), бутстреп ML (BP – bootstrap percentages) и апостериорных вероятностей BI (PP – posterior probabilities). Сходимость запусков и достаточная выборка были проверены в программе Tracer v1.7. (Rambaut et al., 2018), обеспечивая достижение всеми параметрами эффективного размера выборки (ESS) > 200. Филогенетические деревья были визуализированы в программе FigTree v. 1.3.1. Различия между нуклеотидными последовательностями охарактеризовали с помощью генетических различий, мерой которых являлся процент несовпадений нуклеотидов при попарном сравнении выравненных последовательностей, вычисленный в программе MEGA 11 с помощью 2-параметрической модели Кимуры (complete deletion) (Tamura et al., 2021).

2.6. Определение состава жирных кислот

Для определения жирнокислотного (ЖК) состава суммарных липидов предварительно зафиксированную биомассу, омыляли 1М водно-спиртовой щелочью (80%), отмывали неомыляемые компоненты от свободных ЖК н-гексаном. Свободные ЖК получали добавлением 20% серной кислоты, экстрагировали н-гексаном и метилировали. Метиловые эфиры ЖК анализировали на приборе Хроматэк Кристалл 5000.2 NP с квадрупольным МС детектором и колонкой Restek Rtx-2330 (60 м, кат. № 10726). Суммарные липиды оценивали по количеству этерифицированных ЖК на 1 г сухой массы клеток. Внутренний стандарт – добавленная маргариновая кислота. Измерения проводились в трех биологических повторностях (Krivina et al., 2024).

3. Результаты

Все исследуемые штаммы имели *Coelastrella*-подобную морфологию (Рис. 1 A–F, Таблица 1). Штамм D4_4/5, характеризовался яйцевидными, овальными и круглыми клетками, с многочисленными ребрами, но без апикальных утолщений (Рис. 1A). Клетки штаммов D2_6a2 и D4_1/5 были шаровидными, овальными или широкоовальными, ребра и полярные утолщения отсутствовали (Рис. 1 B, C). Штаммы D2_3c1, D4_8k и D7_11k имели одиночные, овальные или лимоновидные клетки с 8 ребрами, с полярными утолщениями на полюсах клеток и без них (Рис. 1 D–F). Клетки штаммов D2_3c1, D4_8k, D7_11k и D2_6a2 и D4_1/5 были несколько крупнее, чем у штамма D4_4/5 (4–11 × 3–10 мкм). Хлоропласт в молодых клетках у всех штаммов был пристенным, во взрослых клетках – распадался на дисковидные пластинки. Пиреноид 1, с крахмальной обверткой из нескольких скорлупок. Количество автоспор у штамма D4_4/5 достигало 16, тогда как у остальных штаммов не превышало 8.

По результатам молекулярно-генетического анализа с использованием в качестве филогенетического маркера внутреннего транскрибируемого спейсера ITS2 все исследуемые штаммы вошли в состав рода *Coelastrella* (Рис. 2). Штаммы D2_3c1, D4_8k, D7_11k с максимальными статистическими поддержками кластеризовались с аутентичным штаммом *C. affinis* VKM Al-356. Генетические дистанции между ними и VKM Al-356 варьировали в пределах от 0 до 0,8%. Штаммы D2_6a2 и D4_1/5 формировали одну группу с аутентичным штаммом *C. polaris* VKM Al-421 (SH-aLRT – 99%, BP – 100%, PP – 1,00), а генетические различия не превышали 0,4%. Штамм D4_4/5 входил в состав одного кластера с аутентичным штаммом *C. multistriata* CCALA 309 (SH-aLRT – 96%, BP – 99%, PP – 1,00), при этом генетические дистанции между ними составляли 0,4%.

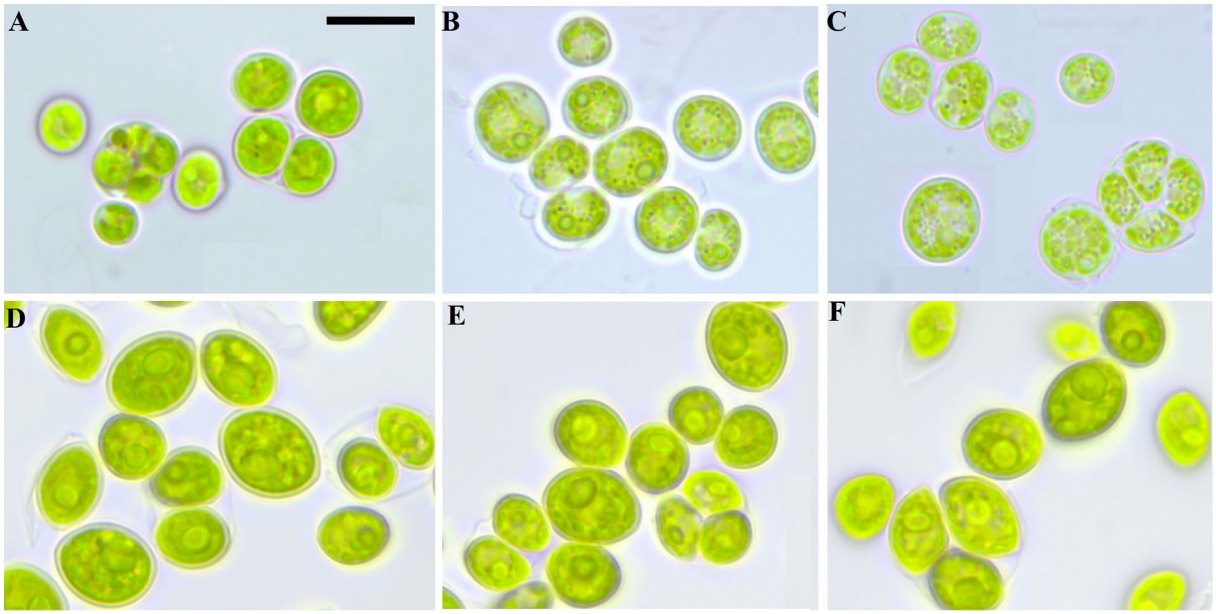


Рис.1. Морфология исследуемых штаммов рода *Coelastrella*: (A) C. *multistriata* D4_4/5, (B) *C. polaris* D2_6a2, (C) *C. polaris* D4_1/5, (D) *C. affinis* D2_3c1, (E) *C. affinis* D4_8k, (F) *C. affinis* D7_11k. Шкала: 10 мкм.

Анализ профиля жирных кислот (ЖК) показал, что у всех исследуемых штаммов преобладает α-линоленовая кислота (18:3Δ9,12,15), которая относится к группе незаменимых омега-3-ненасыщенных ЖК. При этом, у представителей *C. polaris* ее содержание было наибольшим (*C. polaris* D2_6a2 – 40%, D4_1/5 – 42%) по сравнению с другими штаммами (*C. affinis* D2_3c1 – 35%, D4_8k – 37%, D7_11k – 35%; *C. multistriata* D4_4/5 – 35%). У представителей *C. polaris* и *C. affinis* заметный вклад в профиль ЖК вносили пальмитиновая (16:0) (20–23%) и линолевая кислоты (18:2Δ9,12) (9–12%), у штамма *C. multistriata* D4_4/5 – пальмитиновая (19%) и 7,10,13-гексадекатриеновая (16:3Δ7,10,13) (16%) кислоты (Таблица 2).

4. Дискуссия

Все исследуемые штаммы демонстрировали морфологию, типичную для представителей рода *Coelastrella:* клетки овальные, шаровидные, широко овальные, лимоновидные, меридиональные рёбра и апикальные утолщения на полюсах клеток присутствовали у части штаммов, хлоропласт пристенный, во взрослых клетках разделен на сегменты, пиреноид один с крахмальной обверткой, размножение автоспорами (Kalina and Punčochářová, 1987; Kaufnerová and Eliáš, 2013; Wang et al., 2019; Kawasaki et al., 2020; Wang et al., 2021; Nikulin et al., 2025; Novakovskaya et al., 2025). Однако из-за морфологической гетерогенности этих водорослей установить точный диагноз, стало возможно только после проведения молекулярно-генетического анализа с использованием ITS2 в качестве филогенетического маркера. Штаммы D2_3c1, D4_8k, D7_11k были идентифицированы как представители *C. affinis,* штаммы D2_6a2 и D4_1/5 – *C. polaris*, штамм D4_4/5 – *C. multistriata* CCALA 309. Не было обнаружено существенных морфологических отличий исследуемых штаммов от типового описания соответствующих видов. Они кластеризовались с высокими статистическими поддержками с аутентичными

Таблица 1. Морфологические характеристики исследуемых штаммов

	Ребра	Апикальные утолщения	Клеточные агрегаты	Форма клеток	Размер клеток, мкм	Хлоропласт	Количество автоспор
C. multistriata D4_4/5	да	нет	иногда есть	яйцевидные, овальные, шаровидные	4–11 × 3–10	пристенный, разделен на сегменты во взрослых клетках, один пиреноид с крахмальной обверткой	2–16
C. affinis D2_3c1, D4_8k, D7_11k	да	у части клеток	нет	широко овальные, веретеновидные или лимоновидные	6–16 × 4–8		2–8
C. polaris D2_6a2 и D4_1/5	нет	нет	нет	овальные, широко овальные, шаровидные	6–16 × 4–10		2–8

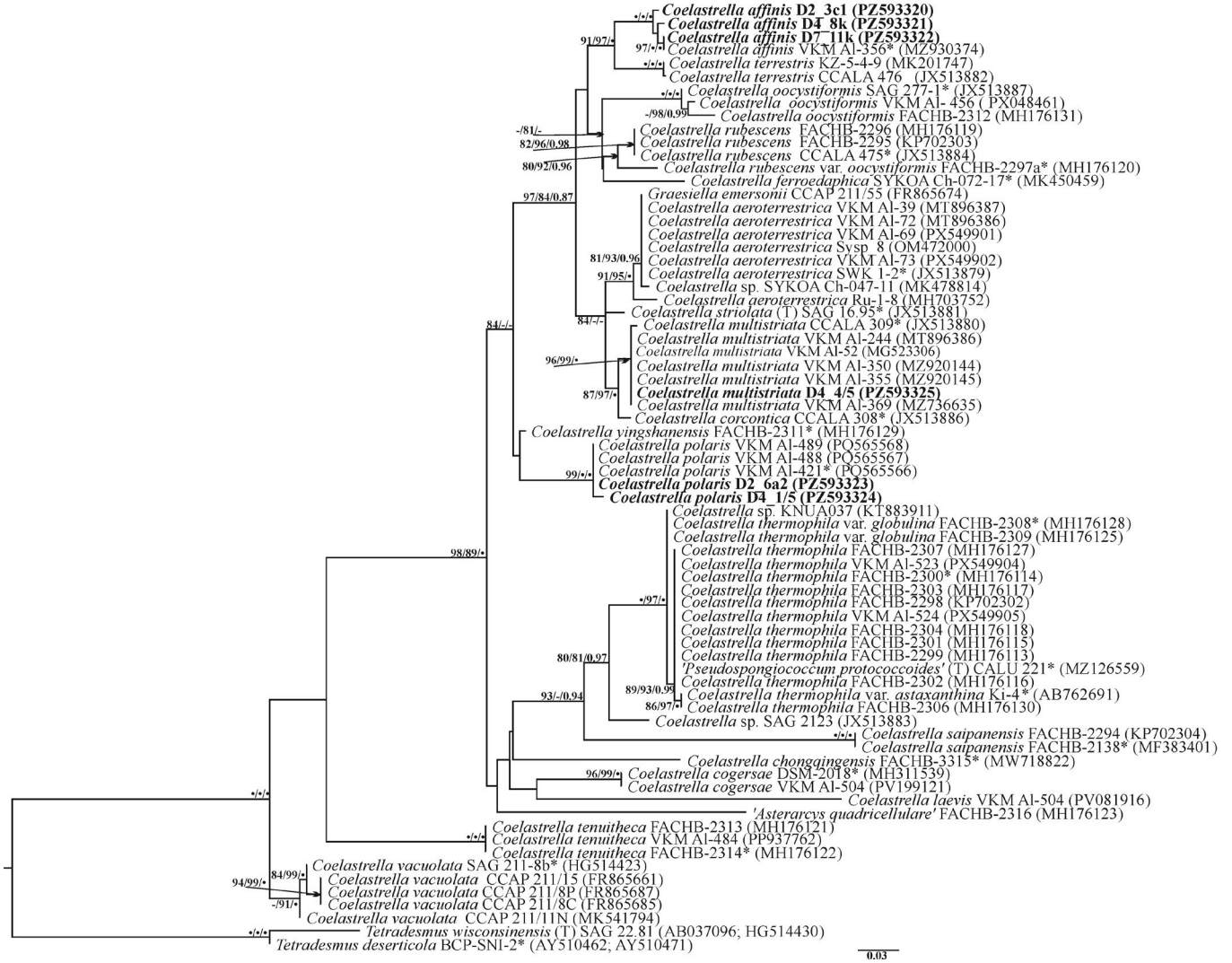


Рис.2. Укорененное филогенетическое дерево зеленых водорослей рода *Coelastrella*, построенное методом Байеса, на основе последовательностей фрагмента ITS2 (267 н.). Значения SH-aLRT и BP менее 80%, PP менее 0.8 не указаны. Модель нуклеотидных замен: TIM2 + I + G4. Обозначения: * – аутентичный штамм; (T) – типовой вид; • – максимальная статистическая поддержка. Полужирным шрифтом выделены исследуемые штаммы.

штаммами этих видов. При этом генетические дистанции в рамках данных кластеров соответствовали внутривидовому уровню (D2_3c1, D4_8k, D7_11k и *C. affinis* VKM Al-356 ≤ 0,8%; D2_6a2, D4_1/5 и *C. polaris* VKM Al-421 – ≤0,4%; *C. multistriata* D4_4/5 – 0,4%), поскольку минимальный межвидовой порог для ITS2 между видами *C. multistriata* и *C. concortica* – 1,6%.

Как уже отмечалось выше, представители рода *Coelastrella* имеют широкое географическое распространение: от полярных до экваториальных широт (Kalina and Punčochářová, 1987; Mikhailyuk et al., 2019; Kawasaki et al., 2020; Boutarfa et al., 2022). Между тем, остается еще не мало белых пятен на карте, и Дуванный Яр – одно из них. В данном исследовании представлена информация о первых находках видов *C. affinis, C. polaris* и *C. multistriata* в современных почвах этого обнажения, которое служит стратотипом типичной едомной толщи. Исследуемые штаммы являлись почвенными обитателями, что является весьма типичным для представителей этих видов (Kaufnerová and Eliáš, 2013; Wang et al., 2019; Kawasaki et al., 2020; Wang et al., 2021; Krivina et al., 2024; 2025).

Анализ профиля жирных кислот показал, что у всех исследуемых штаммов зелёных водорослей рода *Coelastrella* доминирующей жирной кислотой является α-линоленовая кислота (ALA, 18:3Δ9,12,15), которая относится к группе незаменимых омега-3-полиненасыщенных жирных кислот. Её содержание варьировало от 35% до 42,1% от общего пула жирных кислот, что характерно для многих представителей этого рода и отражает высокую активность десатураз и элонгаз, ответственных за биосинтез полиненасыщенных жирных кислот (Goecke et al., 2020; Maltsev et al., 2021; Boutarfa et al., 2022; Krivina et al., 2024). При этом, у представителей *C. polaris* её содержание было наибольшим среди всех изученных штаммов: максимальные значения зафиксированы у штамма D4_1/5 (42,1%) и D2_6a2 (40,4%). Хотя это несколько ниже, чем у аутентичных штаммов *C. polaris* VKM Al-421 (43,4%) и *C. striolata* SAG 16.95 (44,2%), которые показывают наиболее высокие результаты в рамках рода (Lang et al., 2011; Krivina et al., 2025), эти штаммы можно рассматривать как перспективные для биотехнологического получения омега-3-жирных кислот. У штаммов *C. affinis* уровень α-линоленовой кислоты

Таблица 2. Профили жирных кислот исследуемых штаммов, %

Жирные кислоты	*C. multistriata* D4_4/5	*C. polaris* D2_6a2	*C. polaris* D4_1/5	*C. affinis* D2_3c1	*C. affinis* D4_8k	*C. affinis* D7_11k
14:0	1,5 ± 0,2	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,3 ± 0,1
16:0	19,0 ± 0,4	20,4 ± 0,2	22,5 ± 0,4	22 ± 0,3	23 ± 0,4	23 ± 0,2
16:1Δ7	-	-	-	0,5 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,4 ± 0,1
16:1Δ9	1,8 ± 0,1	1,3 ± 0,1	1,2 ± 0,1	0,7 ± 0,2	0,7 ± 0,1	0,7 ± 0,1
16:2Δ7,10	2,4 ± 0,1	1,7 ± 0,1	1,5 ± 0,2	5,4 ± 0,2	4,2 ± 0,1	4,8 ± 0,3
16:3Δ7,10,13	16,0 ± 0,4	4,8 ± 0,3	4,9 ± 0,3	10 ± 0,3	9,8 ± 0,4	9,7 ± 0,3
18:0	2,3 ± 0,3	5,7 ± 0,7	4,7 ± 0,8	3,2 ± 0,4	3 ± 0,2	3,1 ± 0,3
18:1Δ9	7,9 ± 0,1	6,5 ± 0,1	5,6 ± 0,2	7,4 ± 0,1	6,8 ± 0,2	7,0 ± 0,2
18:1 Δ11	6,3 ± 0,1	4,6 ± 0,1	3,6 ± 0,2	2,9 ± 0,1	2,1 ± 0,1	2,7 ± 0,1
18:2Δ9,12	7,1 ± 0,1	9,6 ± 0,1	9 ± 0,1	11,9 ± 0,2	12 ± 0,3	11,7 ± 0,2
18:3Δ9,12,15	35,0 ± 0,9	40,4 ± 0,7	42,1 ± 0,4	35 ± 0,9	37 ± 0,6	35 ± 0,8
21:0	0,3 ± 0,1	-	-	-	-	-
22:0	0,4 ± 0,1	-	-	-	-	-
24:0	-	1,6 ± 0,2	1,6 ± 0,2	0,8 ± 0,1	0,9 ± 0,1	0,8 ± 0,1
26:0	-	2,9 ± 0,9	2,9 ± 0,7	-	-	-

был несколько ниже и оставался стабильным в диапазоне 35–37% (D2_3c1 – 35%, D4_8k – 37%, D7_11k – 35%). Также у представителей *C. polaris* и *C. affinis* содержание пальмитиновой кислоты находилось в диапазоне 20–23%, что типично для зелёных водорослей, где она выполняет структурную функцию в мембранах и служит субстратом для синтеза полиненасыщенных жирных кислот (Lang et al., 2011; Minyuk et al., 2017; Maltsev et al., 2021; Doppler et al., 2022; Krivina et al., 2025). Линолевая кислота, относящаяся к классу незаменимых омега-6- полиненасыщенных жирных кислот, также присутствовала в заметных количествах: у штаммов *C. affinis* её уровень достигал 11,7–12,0%, у штаммов *C. polaris* – 9,0–9,6%. Соотношение омега-3/омега-6 кислот (примерно 3.5:1 у *C. polaris* и 2.9:1 у *C. affinis*) является физиологически благоприятным и указывает на высокую пищевую ценность этих микроводорослей для использования в аквакультуре и биотехнологии (Patterson et al., 2012; Maltsev et al., 2021).

В отличие от двух других видов, у штамма *C. multistriata* D4_4/5 наблюдался иной жирнокислотный профиль, который близок к штамму MZ–Ch23 (Maltsev et al., 2021). Содержание α-линоленовой кислоты у D4_4/5 её содержание составило 35%, что сопоставимо с показателями *C. affinis*. При этом, наряду с пальмитиновой кислотой (19%) значительную долю составляла 7,10,13-гексадекатриеновая кислота, содержание которой достигало 16% – этот показатель был в 1,6–3,3 раза выше, чем у остальных изученных штаммов (от 4,8% до 10%). 7,10,13-гексадекатриеновая кислота, являющаяся короткоцепочечным гомологом α-линоленовой кислоты и также относящаяся к омега-3-полиненасыщенных жирных кислот, накапливается в мембранах хлоропластов зелёных водорослей (Heilmann et al., 2004; Lang et al., 2011). Отметим также, что у D4_4/5 содержание линолевой кислоты было минимальным (7,1%) по сравнению с другими штаммами, что указывает на перераспределение углеродного потока в сторону синтеза 16-углеродных полиненасыщенных жирных кислот (16:2 и 16:3) в ущерб 18-углеродным омега-6-производным.

5. Заключение

Таким образом, впервые в современных почвах Дуванного Яра (Республика Саха, Россия) были найдены представители трех различных видов рода *Coelastrella* и изучены их профили жирных кислот. Штаммы D2_3c1, D4_8k и D7_11k принадлежали к виду *C. affinis*, штаммы D2_6a2 и D4_1/5 – к виду *C. polaris,* штамм D4_4/5 – к виду *C. multistriata*. Все они обладают значительным биотехнологическим потенциалом, являясь продуцентами полиненасыщенных жирных кислот. Исследуемые штаммы *C. polaris* отличаются максимальной продукцией α-линоленовой кислоты, штаммы *C. affinis* – сбалансированным содержанием α-линоленовой и линолевой кислот, тогда как штамм *C. multistriata* D4_4/5 характеризуется относительно высоким содержанием 7,10,13-гексадекатриеновой кислоты, что делает его интересным объектом для изучения механизмов адаптации и потенциальным источником редких полиненасыщенных жирных кислот.

Благодарности

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда 25-24-00873, https://rscf.ru/project/25-24-00873/.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

Ancona-Canché K., López-Adrián S., Espinosa-Aguilar M. et al. 2017. Molecular phylogeny and morphologic data of strains of the genus *Coelastrella* (Chlorophyta, Scenedesmaceae) from a tropical region in North America (Yucatan Peninsula). Botanical Sciences 95(3): 527–537. DOI: 10.17129/botsci.1201

Baele G., Ji X., Hassler G.W. et al. 2025. BEAST X for Bayesian phylogenetic, phylogeographic and phylodynamic inference. Nature Methods 22: 1653–1656. DOI: 10.1038/s41592-025-02751-x

Boutarfa S., Senoussi M.M., Gonzalez-Silvera D. et al. 2022. The Green Microalga *Coelastrella thermophila* var. *globulina* (Scenedesmaceae, Chlorophyta) Isolated from an Algerian Hot Spring as a Potential Source of Fatty Acids. Life 12(4): 560. DOI: 10.3390/life12040560

Chodat R. 1922. Matériaux pour l'histoire des algues de la Suisse [Materials for the history of algae in Switzerland]. Bulletin de la Société Botanique de Genève Sér 2(13): 66–114.

Doppler P., Kriechbaum R., Käfer M. et al. 2022. *Coelastrella terrestris* for Adonixanthin Production: Physiological Characterization and Evaluation of Secondary Carotenoid Productivity. Marine Drugs 20(3): 175. DOI: 10.3390/md20030175

Goecke F., Noda J., Paliocha M. et al. 2020. Revision of Coelastrella (Scenedesmaceae, Chlorophyta) and first register of this green coccoid microalga for continental Norway. World Journal of Microbiology and Biotechnology 36(10): 149. DOI: 10.1007/s11274-020-02897-0

Guiry M.D., Guiry G.M. 2026. AlgaeBase. World-wide electronic publication, University of Galway. URL: https://www.algaebase.org Accessed 29 June 2026

Heilmann I., Mekhedov S., King B. et al. 2004. Identification of the Arabidopsis palmitoyl-monogalactosyldiacylglycerol Δ7-desaturase gene FAD5, and effects of plastidial retargeting of Arabidopsis desaturases on the fad5 mutant phenotype. Plant Physiology 136(4): 4237–4245. DOI: 10.1104/pp.104.052951

Johnson J.L., Fawley M.W., Fawley K.P. 2007. The diversity of Scenedesmus and Desmodesmus (Chlorophyceae) in Itasca State Park, Minnesota, USA. Phycologia 46(2): 214–229. DOI: 10.2216/05-69.1

Kalina T., Punčochářová M. 1987. Taxonomy of the subfamily Scotiellocystoideae Fott 1976 (Chlorellaceae, Chlorophyceae). Algological Studies 45: 473–521.

Katoh K., Rozewicki J., Yamada K.D. 2019. MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. Briefings in Bioinformatics 20(4): 1160–1166. DOI: 10.1093/bib/bbx108

Kaufnerová V., Eliáš M. 2013. The demise of the genus *Scotiellopsis* Vinatzer (Chlorophyta). Nova Hedwigia 97(3-4): 415–428. DOI: 10.1127/0029-5035/2013/0116

Kawasaki S., Yoshida R., Ohkoshi K. et al. 2020. *Coelastrella astaxanthina* sp. nov. (Sphaeropleales, Chlorophyceae), a novel microalga isolated from an asphalt surface in midsummer in Japan. Phycological Research 67(2): 107–114. DOI: 10.1111/pre.12412

Krivina E., Sinetova M., Starikov A. et al. 2025. Testing the Effectiveness of DNA Barcoding Markers and Species Delimitation Methods Within the Genus *Coelastrell* (Sphaeropleales, Chlorophyta), With a Description of *Coelastrella polaris* sp. nov. Isolated from Arctic Soils. Current Microbiology 82: 311. DOI: 10.1007/s00284-025-04293-z

Krivina E., Sinetova M., Zadneprovskaya E. et al. 2024. The genus *Coelastrella* (Chlorophyceae, Chlorophyta): molecular species delimitation, biotechnological potential, and description of a new species *Coelastrella affinis* sp. nov., based on an integrative taxonomic approach. Antonie van Leeuwenhoek 117(1): 113. DOI: 10.1007/s10482-024-02008-1

Lang I., Hodac L., Friedl T. et al. 2011. Fatty acid profiles and their distribution patterns in microalgae: A comprehensive analysis of more than 2000 strains from the SAG culture collection. BMC Plant Biology 11: 124. DOI: 10.1186/1471-2229-11-124

Maltsev Y., Krivova Z., Maltseva S. et al. 2021. Lipid accumulation by Coelastrella multistriata (Scenedesmaceae, Sphaeropleales) during nitrogen and phosphorus starvation. Scientific Reports 11(1): 19818. DOI: 10.1038/s41598-021-99376-9

Mikhailyuk T., Glaser K., Tsarenko P. et al. 2019. Composition of biological soil crusts from sand dunes of the Baltic Sea coast in the context of an integrative approach to the taxonomy of microalgae and cyanobacteria. European Journal of Phycology 54(3): 263–290. DOI: 10.1080/09670262.2018.1557257

Minyuk G.S., Chelebieva E.S., Chubchikova I.N. et al. 2017. Stress-induced secondary carotenogenesis in Coelastrella rubescens (Scenedesmaceae, Chlorophyta), a producer of value-added keto-carotenoids. Algae 32(3): 245–259. DOI: 10.4490/algae.2017.32.8.6

Nikulin V.Y., Sushchenko R.Z., Abdullin S.R. et al. 2025. *Coelastrella laevis* sp. nov. (Chlorophyta, Sphaeropleales) from the soils of the Russian Far East. Phycologia 64(5): 420–428. DOI: 10.1080/00318884.2025.2562622

Novakovskaya I.V., Dymova O.V., Shadrin D.M. et al. 2025. Carotenoids and fatty acids composition of *Coelastrella ferroedaphica* sp. nov. (Chlorophyta, Scenedesmaceae). Russian Journal of Plant Physiology 72(163): 1–13. DOI: 10.1134/s1021443725602289

Novis P.M., Visnovsky G. 2012. Novel alpine algae from New Zealand: Chlorophyta. Phytotaxa 39: 1–30. DOI: 10.11646/phytotaxa.39.1.1

Patterson E., Wall R., Fitzgerald G.F. et al. 2012. Health implications of high dietary omega-6 polyunsaturated Fatty acids. Journal of Nutrition and Metabolism 2012: 539426. DOI: 10.1155/2012/539426

Rambaut A., Drummond A.J., Xie D. et al. 2018. Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. Systematic Biology 67(5): 901–904. DOI: 10.1093/sysbio/syy032

Tamura K., Stecher G., Kumar S. 2021. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. Molecular Biology and Evolution 38(7): 3022–3027. DOI: 10.1093/molbev/msab120

Vishnivetskaya T.A. 2009. Viable Cyanobacteria and Green Algae from the Permafrost Darkness. In: Margesin R. (Ed.), Permafrost Soils. Soil Biology, Vol. 16. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 1–20. DOI: 10.1007/978-3-540-69371-0 6

Vishnivetskaya T.A., Almatari A.L., Spirina E.V. et al. 2020. Insights into community of photosynthetic microorganisms from permafrost. FEMS Microbiology Ecology 96(12): fiaa229. DOI: 10.1093/femsec/fiaa229

Vishnivetskaya T.A., Erokhina L.G., Spirina E.V. et al. 2001. Ancient viable phototrophs within the permafrost. Nova Hedwigia 123: 427–442.

Wang Q., Song H., Liu X. et al. 2019. Morphology and molecular phylogeny of coccoid green alga *Coelastrella* sensu lato (Scenedesmaceae, Sphaeropleales), including the description of three new species and two new varieties. Journal of Phycology 55(6): 1290–1305. DOI: 10.1111/jpy.12915

Wang Q.-H., Song H.-Y., Xiu X.-D. et al. 2021. *Coelastrella chongqingensis* sp. nov., a novel species of the subaerial coccoid green algae within the *Coelastrella* (Scenedesmaceae, Sphaeropleales). Acta Hydrobiologica Sinica 45(6): 1351–1360.

Original Article
LIMNOLOGY FRESHWATER BIOLOGY

Feasibility of microalgae farms as an alternative technology for carbon sequestration under the temperate climate conditions of Central Russia

Khlebova D.L.*, Galieva G.Sh., Statsenko E.A., Galitskaya P.Y., Selivanovskaya S.Y.

Kazan Federal University, Kazan, Republic of Tatarstan, 420008, Russia

ABSTRACT. Microalgae farms offer a promising route for carbon capture owing to the high photosynthetic efficiency of microalgae (10–20%) versus terrestrial plants (1–2%) and to their ability to use industrial CO_2 and wastewater nutrients. This study calculates the carbon balance of a hypothetical 100 m^2 photobioreactor farm in the temperate climate of Central Russia (Kazan), supplied with thermal-power-plant flue gas and treated municipal wastewater. At a productivity of 3.5 g/L per day, photosynthetic CO_2 uptake (642.25 kg/day) exceeds combined emissions (21.7 kg CO_2/day), giving a negative footprint of approximately -226.5 t CO_2/year and supporting farm feasibility for carbon sequestration in a temperate climate. Achieving this productivity, however, requires strains tolerant to flue gas/wastewater contaminants and pH/temperature fluctuations, making closed photobioreactors a realistic but demanding route to carbon-negative biomass production in temperate regions.

Keywords: microalgae, carbon sequestration, photobioreactor, carbon footprint, flue gas, temperate climate

For citation: Khlebova D.L., Galieva G.Sh., Statsenko E.A., Galitskaya P.Y., Selivanovskaya S.Y. Feasibility of microalgae farms as an alternative technology for carbon sequestration under the temperate climate conditions of Central Russia // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - P. 405-419. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-405

1. Introduction

To mitigate climate change, various carbon capture and storage technologies have emerged, including geological CO_2 storage and biological sequestration. Among biological methods, the use of microalgae—unicellular green algae and, less commonly, cyanobacteria—for carbon capture has attracted particular attention. The photosynthetic efficiency of microalgae reaches 10–20%, considerably exceeding that of terrestrial plants, including forests (1–2%), which makes microalgae an attractive object for carbon sequestration biotechnology (Singh and Ahluwalia, 2013).

Green microalgae (*Chlorophyta*) inhabit both marine and freshwater environments. They are characterized by high growth rates and by the ability to capture CO_2 from the atmosphere, industrial flue gas, or dissolved carbonates in aquatic ecosystems (Klinthong et al., 2015). The most extensively studied genera include *Chlorella*, *Scenedesmus*, and *Botryococcus*, which are widely investigated for applications in carbon neutralization, biofuel production, and the synthesis of high-value bioproducts (Wang et al., 2022). In addition to *Chlorophyta*, alternative microalgal groups, such as coccolithophorids, were also explored for CO_2 bioremediation purposes (Moheimani, 2005). Cyanobacteria, or blue-green algae, are prokaryotes that nonetheless contain chlorophyll and are capable of photosynthesis. Like green microalgae, they can rapidly accumulate biomass and additionally display high tolerance to eutrophication and chemical pollution.

Photosynthesis in green microalgae comprises two phases: a light-dependent phase, in which solar energy excites chlorophyll molecules and generates ATP and NADPH, and a light-independent phase (the Calvin cycle), in which the enzyme ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (RuBisCO) fixes CO_2 into organic molecules (Masojídek et al., 2013). The fixed carbon accumulates as carbohydrates, lipids, or extracellular compounds, which can subsequently be used for economic purposes. The efficiency of CO_2 fixation depends on a combination of factors, including light intensity, temperature, CO_2 concentration, pH, and nutrient availability. Optimization of these parameters is the subject of an extensive body of process-engineering literature (Bhola et al., 2014; Li et al., 2023).

*Corresponding author. E-mail address: khlebova.darya@mail.ru (D.L. Khlebova)

Received: June 30, 2026;
Accepted after revised: August 10, 2026;
Available online: August 28, 2026

© Author(s) 2026. This work is distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

To implement carbon sequestration using microalgae, so-called algae farms are constructed. The most common designs are open ponds and closed photobioreactors. Open ponds, widely used owing to their low cost, are shallow basins equipped with paddle-wheel mixing to maximize light capture and CO_2 supply. Their main drawbacks are vulnerability to contamination and water loss through evaporation. Closed photobioreactors (PBRs) are more expensive to construct and operate but avoid these drawbacks and additionally provide better control over light intensity, temperature, and CO_2 concentration, resulting in higher biomass (or other useful product) yields (Bhola et al., 2014). Photobioreactor designs vary widely, tubular, flat-plate, and bubble-column configurations among them, and the choice of design strongly affects CO_2 transfer efficiency and overall productivity (Fu et al., 2019). Currently operating microalgae farms differ substantially in productivity, products obtained, and location (Table 1).

Overall, the global distribution of microalgae farms differs considerably between hot- and temperate-climate regions. Hot-climate areas, including parts of the USA (e.g., Florida and California), Australia, India, and Southeast Asia, host a substantial number of microalgae farms, since these territories provide sufficient insolation and temperature for algal growth. Countries such as India and China are actively investing in large-scale algae cultivation projects, capitalizing on their warm climate. In temperate-climate regions, including parts of central Europe (e.g., Germany and the Netherlands), Japan, and some areas of North America, the number of microalgae farms is markedly lower. Lower temperatures and reduced insolation in these regions necessitate advanced cultivation technologies, such as closed photobioreactors with maintained optimal growth conditions, which often leads to higher operating costs and can limit wider deployment. Overall, approximately 60–70% of commercial microalgae production facilities are located in hot-climate regions and 30–40% in temperate-climate regions (Spolaore et al., 2006).

In Russia, research on microalgae species and properties, as well as on prospects for their industrial cultivation, including carbon sequestration, is conducted at the K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology of the Russian Academy of Sciences (Moscow), the A.O. Kovalevsky Institute of Biology of Southern Seas of the Russian Academy of Sciences (IBSS RAS, Sevastopol), Kazan (Volga region) Federal University (Kazan), and some other research institutes. No information on commercial microalgae farms was identified during the literature search; however, several experimental production facilities were found. IBSS RAS (Sevastopol) developed and launched a pilot algal-biotechnical module for evaluating the productivity of various microalgae cultures across different seasons, with the results intended to inform recommendations for industrial cultivation. The company Biotechros (Moscow) is developing microalgae cultivation technologies for biofuel and feed-additive production, aiming to build industrial-scale facilities for mass microalgae cultivation. The Algobiotech project (Penza) focuses on developing and implementing cultivation technologies for dietary supplements, cosmetics, and animal feed, in cooperation with research institutions to optimize cultivation and processing.

A recognized strategy for improving the economic and environmental viability of microalgae farms is the combined use of industrial flue gas as a CO_2 source and wastewater as a source of nitrogen and phosphorus, since this simultaneously addresses two environmental problems—CO_2 emissions and wastewater nutrient loading—within a single technological process (Ji et al., 2013; Wang et al., 2022). Bio-fixation of flue gas from thermal power plants by microalgae was highlighted as a promising route for industrial CO_2 mitigation, although it requires consideration of the gas

Table 1. Examples of microalgae farms with different characteristics (Fu et al., 2019; Ramaraj et al., 2014)

Farm name	Location	Technology	CO_2 productivity	Year founded	Additional use
Algenol Biotech	Florida, USA	Closed photobioreactors	~60 t CO_2/ha/year	2006	Biofuel, nutraceuticals
RITE Project	Japan	Open ponds	~1 g CO_2/L/day	1990	Hydrogen production, wastewater treatment
BioSolar Cells	Netherlands	Photovoltaically-assisted photobioreactors	~75 t CO_2/ha/year	2010	Industrial feedstock, pigments
Tsinghua Raceway Pond	China	Open pond	~30 t CO_2/ha/year	1985	Animal feed
Swedish consortium	Sweden	Hybrid pond system	~50 t CO_2/ha/year	2021	Biofertilizers, wastewater reuse
IBSS RAS	Sevastopol, Russia	Algal-biotechnical module	Experimental unit, no productivity data available	2023	Development of recommendations for industrial microalgae cultivation

Note. For the RITE project, productivity is given in volumetric units (g CO_2/L/day) because the primary source provides no data on the area or working volume of the unit; this value is not directly comparable with the areal values (t CO_2/ha/year) reported for the other farms.

composition and associated contaminants (Singh et al., 2019). The calculation presented below is based on this integrated approach.

The aim of this study is to assess the feasibility of using microalgae farms as an alternative technology for carbon sequestration under the conditions of the temperate climate zone of Central Russia. In this regard, we calculated a carbon balance for a representative model farm and analyzed the operating conditions required for its practical implementation.

2. Materials and methods

Since no commercial microalgae farms currently operate under the temperate climate conditions of central Russia, a representative engineering calculation was performed for a hypothetical medium-sized farm, following an approach typical of techno-economic feasibility assessments of biotechnological installations (Fu et al., 2019; Abdur Razzak et al., 2024).

The model farm was assumed to use a vertical tubular photobioreactor housed in a closed, greenhouse-type structure—a configuration favored for temperate climates thanks to its superior control of irradiance, temperature, and CO_2 concentration relative to open ponds (Bhola et al., 2014; Fu et al., 2019). Typical tube dimensions were taken as 5 cm in diameter and 2.3 m in height. The useful greenhouse area was set at 100 m^2, of which 40 m^2 is occupied by walkways and gaps between tube rows. On the remaining working area (60 m^2), the tubes are arranged in two vertical tiers on racks: the horizontal projection of the tube bases occupies approximately one-third of the working area ($\approx$21.7 m^2), while the other two-thirds remain clear for light penetration and servicing access. For the assumed internal diameter, the total number of tubes is ~22,000 ($\approx$4.5 L per tube), giving a total culture-liquid volume of approximately 100 m^3. A vertical, multitier arrangement allows the required illuminated culture volume to be accommodated on a limited footprint without excessively dense in-plane packing of the tubes (Fu et al., 2019).

The CO_2 source for the farm was assumed to be flue gas from a thermal power plant (TPP), mixed with ambient air, which simultaneously provides warming of the culture medium to the optimal temperature. Biofixation of TPP flue gas by microalgae is a recognized strategy for industrial CO_2 mitigation (Singh et al., 2019). The flue gas is drawn from the plant's flue duct (downstream of the gas-cleaning system) via a slip-stream off-take and delivered to the farm by a blower through a pipeline. Taking a slip-stream at the flue-duct level, rather than at the stack outlet, is a standard practice in flue-gas bio-fixation (Singh et al., 2019; Li et al., 2026), which requires no change to the plant's stack dispersion scheme. Nutrients were assumed to be supplied by raw municipal wastewater diluted with partially treated wastewater, an approach consistent with published studies on microalgae cultivation in municipal and industrial wastewater for combined nutrient removal and biomass production (Ji et al., 2013; Wang et al., 2022). As an illustrative siting example, such a farm could be located in the city of Kazan, between the heat and power plant TPP-1 and the Vodokanal municipal wastewater treatment facility, which are situated close to one another. The general operating principle of the farm is shown in Fig. 1.

Biomass productivity was taken as 3.5 g/L per day and specific energy consumption as 207 MJ/m^2 per year, based on published data for microalgae cultivation in photobioreactors (Abdur Razzak et al., 2024). The adopted value of 3.5 g/L/day is an upper bound on productivity under optimized conditions. Municipal wastewater as a source of organic carbon enables mixotrophic cultivation, under which biomass productivity can exceed that of purely photoautotrophic growth by a factor of two to five (Pang et al., 2019), and achieving the adopted level requires strain selection and, where necessary, adaptation (see Discussion). For the present calculation, biomass was assumed to be used as animal feed; this assumption does not affect the carbon balance calculation itself, although alternative biomass valorization routes are described in the Discussion.

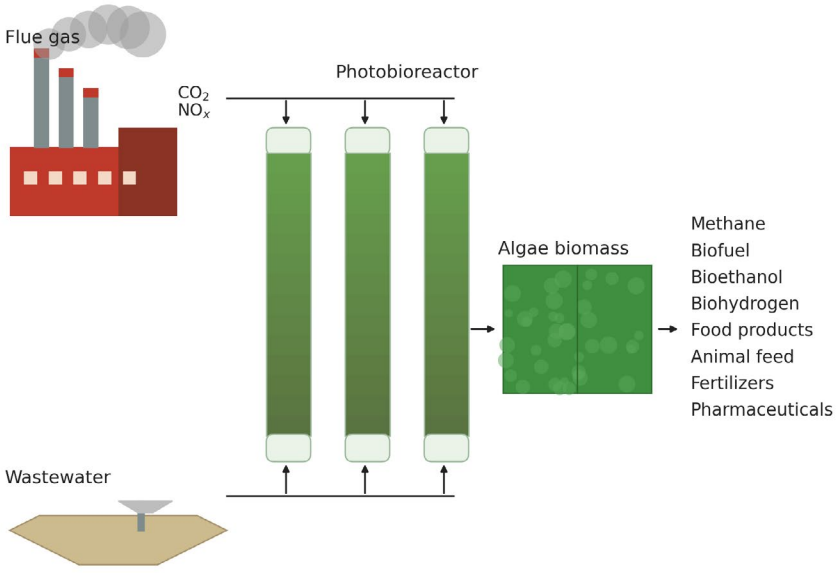


Fig.1. General operating scheme of a microalgae farm using flue gas and wastewater as carbon and nutrient sources.

The carbon footprint of the farm was calculated as the difference between CO_2 captured through photosynthesis and CO_2 emitted as a result of energy consumption and water treatment during operation using the following steps:

(1) Daily biomass production = productivity (g/L day) × reactor liquid volume (L).

(2) Daily carbon fixation = daily biomass production × carbon content of dry biomass (taken as 50%, consistent with the typical biochemical composition of microalgal biomass; Masojídek et al., 2013).

(3) Daily CO_2 uptake = daily carbon fixation × 44/12 (the stoichiometric mass ratio of CO_2 to C).

(4) Daily energy-related CO_2 emissions = (annual specific energy consumption × useful area / 365) × emission factor for thermal power generation (taken as 0.25 kg CO_2/MJ, a representative average value for fossil-fuel power generation).

(5) Daily water-treatment CO_2 emissions = daily volume of supernatant (spent culture liquid) generated during biomass harvesting and requiring polishing before discharge × specific emission factor for water treatment and pumping (taken as 5 kg CO_2/m^3).

(6) Net daily carbon footprint = daily CO_2 uptake − (daily energy-related emissions + daily water-treatment emissions).

The resulting daily value was extrapolated to an annual carbon footprint by multiplying by 365 days.

Additionally, to assess the effect of seasonality, a scenario calculation was performed in which biomass productivity was set proportional to the mean monthly insolation for Kazan (≈55.8°N; PVGIS/Global Solar Atlas data), normalized to the summer maximum corresponding to the design productivity of 3.5 g/L/day. Culture heating in the cold season was assumed to be provided by the waste heat of the flue gas, and artificial illumination at the design level was not assumed because of the associated negative energy balance (Slade and Bauen, 2013). The annual carbon balance was computed as the sum of daily values over all months.

3. Results

The daily biomass production of the model farm is 3.5 g/L per day × 100,000 L = 350 kg/day. Assuming a carbon content of approximately 50% of dry biomass, the corresponding daily carbon fixation is 175 kg C per day. Converting to CO_2 using the stoichiometric factor 44/12 ≈ 3.67 gives a daily photosynthetic CO_2 uptake of 175 × 3.67 ≈ 642.25 kg CO_2/day, equivalent to approximately 234.4 t CO_2/year.

The total annual energy consumption of the farm is 207 MJ/m^2 per year × 100 m^2 = 20,700 MJ/year, or 56.71 MJ/day. At an emission factor of 0.25 kg CO_2/MJ for thermal power generation, the corresponding daily CO_2 emission from energy consumption is 56.71 × 0.25 ≈ 14.18 kg CO_2/day.

The farm requires the polishing of ~1.5 m^3 of supernatant (spent culture liquid generated during daily biomass harvesting) per day, taken as a representative estimate for a reactor of this volume. The emission factor below is adopted as a conservative upper bound. At a specific emission factor of 5 kg CO_2/m^3, the corresponding daily CO_2 emission from water treatment and pumping is 1.5 × 5 = 7.5 kg CO_2 per day.

The resulting carbon balance of the model farm is summarized in Table 2. Total daily CO_2 emissions (energy consumption plus water treatment) amount to 14.18 + 7.5 = 21.68 kg CO_2/day, while daily CO_2 uptake through photosynthesis is 642.25 kg CO_2/day. The net carbon footprint is therefore 642.25 − 21.68 ≈ 620.57 kg CO_2 per day, or approximately −226.5 t CO_2/year (a negative value indicating net carbon sequestration).

Thus, the carbon footprint of the model microalgae farm is negative, confirming the principal feasibility of constructing such a farm for carbon sequestration under the temperate climate conditions of Central Russia. It should be noted that the calculation is intentionally simplified: it does not account for the possibility of converting the harvested biomass into higher-value products or energy carriers, and it assumes a comparatively high (though not maximum) biomass productivity that is only achievable with efficient microalgae strains cultivated under near-optimal conditions.

The calculation above corresponds to the design (optimal) operating conditions. Since insolation and temperature vary substantially across seasons in the temperate climate of Central Russia, an additional seasonal scenario calculation of the annual carbon balance was performed (Table 3). It assumes that culture heating is provided by flue-gas waste heat and generates no additional emissions, and that productivity tracks natural insolation (without artificial illumination at the design level, since the latter leads to a negative energy balance (Slade and Bauen, 2013)). Under these assumptions, the mean annual productivity decreases, and the net carbon footprint is approximately −115 t CO_2/year, which is almost half the design value (−226.5 t CO_2/year) but still negative. Thus, seasonality substantially reduces, but does not eliminate, the sequestration potential of the farm.

4. Discussion

The area-normalized gross CO_2 uptake of the model farm (≈234.4 t CO_2/year from a 100 m^2, i.e. 0.01 ha, footprint) substantially exceeds the per-hectare productivities reported for open-pond and flat

Table 2. Carbon balance of the model microalgae farm

Component	Value
Daily biomass production	350 kg/day
Daily CO_2 uptake (photosynthesis)	642.25 kg CO_2/day (≈234.4 t CO_2/year)
Daily CO_2 emissions — energy consumption	14.18 kg CO_2/day
Daily CO_2 emissions — water treatment	7.50 kg CO_2/day
Total daily CO_2 emissions	21.68 kg CO_2/day
Net daily carbon footprint	−620.57 kg CO_2/day
Net annual carbon footprint	≈ −226.5 t CO_2/year

Table 3. Seasonal carbon balance of the model microalgae farm (Kazan).

Period	Days	Mean productivity, g/L/day	Gross CO_2 uptake, kg/day	Net footprint, kg/day	Annual contribution, t/year
Summer (June–August)	92	3.22	591	569	52.4
Spring/autumn (April, May, September, October)	122	2.08	382	361	44.0
Winter (November–March)	151	0.81	148	126	19.1
Total (year)	365	—	—	—	≈ −115 (net)

photobioreactor systems listed in Table 1, such as the Tsinghua raceway pond (≈30 t CO_2/ha/year), the Swedish hybrid pond consortium (≈50 t CO_2/ha/year), Algenol Biotech (≈60 t CO_2/ha/year), or BioSolar Cells (≈75 t CO_2/ha/year). This difference is consistent with the recognized advantage of vertical tubular photobioreactors, which, by packing a large illuminated culture volume into a small footprint, can achieve markedly higher volumetric and areal productivity than shallow open systems (Fu et al., 2019; Abdur Razzak et al., 2024; Li et al., 2023). At the same time, this comparison should be interpreted with caution, since the productivity value used in the present calculation corresponds to optimized photobioreactor operation rather than to data from an operating farm under Russian climatic conditions.

The substantially higher area-normalized value of the model farm relative to the farms listed in Table 1 is explained mainly by the fact that the Table 1 values reflect the average operational performance of existing farms, including downtime, seasonality and non-optimal conditions, whereas the present calculation uses the peak productivity of an optimized regime and a vertical, multi-tier arrangement of a large illuminated culture volume on a small footprint (volumetric rather than the areal productivity of shallow ponds). The seasonal scenario above (Table 3) provides a more realistic lower bound.

For context, a comparison with reforestation is useful: the typical net sequestration of temperate forests is ~2-10 t CO_2/ha/year (on average ≈3.7 t CO_2/ha/year) (Pan et al., 2011). The model farm sequesters ≈115-226 t CO_2/year from a 0.01 ha footprint, i.e. orders of magnitude more per unit area; however, this is achieved at the cost of substantial capital, operating expenditure, and energy use, whereas reforestation delivers sequestration at almost no operating cost and provides co-benefit ecosystem services. Algae farms are therefore most justified where land is scarce and point sources of CO_2 and nutrients are available, and should be regarded as a complement to, rather than a replacement for, reforestation.

The present calculation assumes that the harvested biomass is used as animal feed, which simplifies the carbon balance but does not capture the full potential economic and environmental benefit of the farm. Cultivation under nitrogen-limiting conditions can substantially increase intracellular lipid content, as shown for *Parachlorella kessleri TY02* (Gao et al., 2019) and for the freshwater species *Scenedesmus sp. LX1* grown in secondary wastewater effluent (Xin et al., 2010), suggesting that lipid-oriented cultivation regimes could allow the same farm to produce biodiesel feedstock in addition to, or instead of, feed biomass. Microalgae-based purification of biogas (biomethane upgrading) using chlorophyll-containing microalgae was also demonstrated (Dyachok et al., 2022), indicating an additional avenue for combining the proposed farm with biogas-producing facilities, which are themselves a potential source of CO_2 and heat. Incorporating such high-value or energy-oriented uses of the biomass would be expected to improve both the carbon and the economic balance of the farm relative to the conservative feed-use scenario discussed here.

It should also be noted that, with real flue gas and wastewater, the biomass may accumulate heavy metals (Cu, Zn, Pb, Cd, As, Ni, Hg, etc.) and other contaminants, which accumulate predominantly in the biomass rather than in the culture medium (Napan et al., 2015; Yang et al., 2025). This may restrict the use of the biomass in feed and food chains and requires regular monitoring against feed heavy-metal limits. In cases of exceeded limits, the biomass is better directed to non-feed valorization routes—biodiesel production, biogas upgrading, or (subject to compliance) biofertilizer—consistent with the biomass uses discussed above.

Translating the calculated carbon balance into an operating facility would require overcoming several practical barriers. Achieving the assumed productivity on real flue gas and wastewater feedstocks demands microalgae strains tolerant of SO_2, NO_x, heavy metals, and the pH and temperature fluctuations typical of industrial effluents, a requirement that recent reviews identify as a persistent bottleneck limiting the transition of photobioreactor technology from laboratory to industrial scale (Cheng et al., 2025; Yang et al., 2025). If natural tolerance is insufficient, adaptive laboratory evolution offers a route to developing it in candidate strains (Zhang et al., 2021), and the feasibility of the resulting approach has recently been demonstrated at pilot scale, where a microalgal strain selected for tolerance to industrial reverse-osmosis concentrate, and real flue gas sustained stable nutrient removal and CO_2 fixation in a 6000-L tubular photobioreactor (Li et al., 2026). Comparable strain-selection and pilot-scale validation, for which the IBSS RAS algal-biotechnical module in Sevastopol represents the closest existing Russian analogue, together with an economic assessment of operating costs under temperate-climate conditions, would be necessary prerequisites before the model farm could transit from calculation to practice.

5. Conclusions

The calculated carbon footprint of the model microalgae farm—a vertical tubular photobioreactor with a useful area of 100 m^2, supplied with thermal-power-plant flue gas and municipal wastewater—is negative, at approximately -226.5 t CO_2/year, confirming the principal feasibility of using microalgae farms for carbon sequestration under the temperate climate conditions of Central Russia. The area-normalized productivity of the model closed photobioreactor substantially exceeds the typical per-hectare CO_2 uptake reported for open-pond systems, consistent with the recognized productivity advantage of vertical tubular photobioreactor designs. Achieving the assumed productivity in practice requires the selection, and, where is necessary, the adaptation of microalgae strains tolerant to the contaminants in flue gas (SO_2, NO_x, and heavy metals) and in wastewater, as well as to associated pH and temperature fluctuations. Valorization of the harvested biomass into higher-value products, such as lipid-rich biomass for biodiesel or its use in biogas purification, represents a further avenue for improving both the carbon and the economic balance of the proposed technology and should be addressed in future work, together with pilot-scale validation analogous to the IBSS RAS algal-biotechnical module. Additionally, a seasonal scenario calculation for the conditions of Kazan demonstrates that, under tracking natural insolation, the mean annual net sequestration is roughly halved (to ≈ -115 t CO_2/year) but remains negative, confirming the robustness of this conclusion to seasonality.

Acknowledgements

This work was funded by the subsidy allocated to Kazan Federal University for the state assignment in the sphere of scientific activities, project No. FZSM-2024-0004.

Conflict of interest

The authors declare no conflicts of interest.

References

Abdur Razzak S., Bahar K., Islam K.M.O. et al. 2024. Microalgae cultivation in photobioreactors: sustainable solutions for a greener future. Green Chemical Engineering 5(4): 418–439. DOI: 10.1016/j.gce.2023.10.004

Bhola V., Swalaha F., Ranjith Kumar R. et al. 2014. Overview of the potential of microalgae for CO_2 sequestration. International Journal of Environmental Science and Technology 11(7): 2103–2118. DOI: 10.1007/s13762-013-0487-6

Cheng H., Liu Y., Deng Z. et al. 2025. The potential microalgae-based strategy for attaining carbon neutrality and mitigating climate change: a critical review. Frontiers in Marine Science 12: 1644390. DOI: 10.3389/fmars.2025.1644390

Dyachok V., Venher L., Huhlych S. 2022. The biomethanization gas purification using chlorophyll-synthesizing microalgae. Journal of Ecological Engineering 23(9): 259–264. DOI: 10.12911/22998993/151990

Fu J., Huang Y., Liao Q. et al. 2019. Photo-bioreactor design for microalgae: A review from the aspect of CO_2 transfer and conversion. Bioresource Technology 292: 121947. DOI: 10.1016/j.biortech.2019.121947

Gao Y., Feng J., Lv J. et al. 2019. Physiological changes of *Parachlorella kessleri TY02* in lipid accumulation under nitrogen stress. International Journal of Environmental Research 16(7): 1188. DOI: 10.3390/ijerph16071188

Ji M.K., Abou-Shanab R.A.I., Kim S.H. et al. 2013. Cultivation of microalgae species in tertiary municipal wastewater supplemented with CO_2 for nutrient removal and biomass production. Ecological Engineering 58: 142–148. DOI: 10.1016/j.ecoleng.2013.06.020

Klinthong W., Yang Y.H., Huang C.H. et al. 2015. A review: Microalgae and their applications in CO_2 capture and renewable energy. Aerosol and Air Quality Research 15(2): 712–742. DOI: 10.4209/aaqr.2014.11.0299

Li G., Xiao W., Yang T. et al. 2023. Optimization and process effect for microalgae carbon dioxide fixation technology applications based on carbon capture: A comprehensive review. Journal of Carbon Research 9(1): 35. DOI: 10.3390/c9010035

Li J., Wu Y., Liang S. et al. 2026. Microalgae-mediated treatment of steel industry reverse osmosis concentrate integrated with flue gas carbon fixation: From laboratory selection to pilot-scale verification. Water Research 288: 124561. DOI: 10.1016/j.watres.2025.124561

Masojídek J., Torzillo G., Koblízek M. 2013. Photosynthesis in microalgae. In: Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology, 2nd Edition, pp. 21–36. DOI: 10.1002/9781118567166.ch2

Moheimani N.R. 2005. The Culture of Coccolithophorid Algae for Carbon Dioxide Bioremediation. Thesis, Murdoch University, Australia.

Napan K., Teng L., Quinn J.C. et al. 2015. Impact of heavy metals from flue gas integration with microalgae production. Algal Research 8: 83–88. DOI: 10.1016/j.algal.2015.01.003

Pan Y., Birdsey R.A., Fang J. et al. 2011. A large and persistent carbon sink in the world's forests. Science 333(6045): 988–993. DOI: 10.1126/science.1201609

Pang N., Gu X., Chen S. et al. 2019. Exploiting mixotrophy for improving productivities of biomass and co-products of microalgae. Renewable and Sustainable Energy Reviews 112: 450–460. DOI: 10.1016/j.rser.2019.06.001

Ramaraj R., Tsai D.D.W., Chen P.H. 2014. Freshwater microalgae niche of air carbon dioxide mitigation. Ecological Engineering 68: 47–52. DOI: 10.1016/j.ecoleng.2014.03.058

Singh H.M., Kothari R., Gupta R. et al. 2019. Biofixation of flue gas from thermal power plants with algal biomass: Overview and research perspectives. Journal of Environmental Management 245: 519–539. DOI: 10.1016/j.jenvman.2019.01.043

Singh U.B., Ahluwalia A.S. 2013. Microalgae: a promising tool for carbon sequestration. Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change 18(1): 73–95. DOI: 10.1007/s11027-012-9393-3

Slade R., Bauen A. 2013. Micro-algae cultivation for biofuels: Cost, energy balance, environmental impacts and future prospects. Biomass and Bioenergy 53: 29–38. DOI: 10.1016/j.biombioe.2012.12.019

Spolaore P., Joannis-Cassan C., Duran E. et al. 2006. Commercial applications of microalgae. Journal of Bioscience and Bioengineering 101(2): 87–96. DOI: 10.1263/jbb.101.87

Wang Q., Wang X., Hong Y. et al. 2022. Microalgae cultivation in domestic wastewater for wastewater treatment and high value-added production: Species selection and comparison. Biochemical Engineering Journal 185: 108493. DOI: 10.3390/pr13072052

Xin L., Hong-Ying H., Jia Y. 2010. Lipid accumulation

and nutrient removal properties of a newly isolated freshwater microalga, *Scenedesmus sp. LX1*, growing in secondary effluent. New Biotechnology 27(1): 59–63. DOI: 10.1016/j.nbt.2009.11.006

Yang X.-Y., Wei Y.-X., Su Y.-Q. et al. 2025. The strategies microalgae adopt to counteract the toxic effect of heavy metals. Microorganisms 13(5): 989. DOI: 10.3390/microorganisms13050989

Zhang B., Wu J., Meng F. 2021. Adaptive laboratory evolution of microalgae: A review of the regulation of growth, stress resistance, metabolic processes, and biodegradation of pollutants. Frontiers in Microbiology 12: 737248. DOI: 10.3389/fmicb.2021.737248

Оригинальная статья

Оценка возможности создания водорослевых ферм для улавливания углекислого газа в климатических условиях Средней полосы России

Хлебова Д.Л.*, Галиева Г.Ш., Стаценко Е.А., Галицкая П.Ю., Селивановская С.Ю.

Казанский федеральный университет, г. Казань, Республика Татарстан, 420008, Россия

АННОТАЦИЯ. Фермы по выращиванию микроводорослей являются перспективным направлением для улавливания углерода благодаря высокой фотосинтетической эффективности микроводорослей (10–20 %) по сравнению с наземными растениями (1–2 %), а также способности использовать промышленный CO_2 и питательные вещества из сточных вод. В данном исследовании рассчитан углеродный баланс гипотетической фотобиореакторной фермы площадью 100 м^2, расположенной в условиях умеренного климата Центральной России (г. Казань), с использованием дымовых газов теплоэлектростанции и очищенных городских сточных вод. При продуктивности 3,5 г/л в сутки поглощение CO_2 в процессе фотосинтеза (642,25 кг/сутки) превышает суммарные выбросы (21,7 кг CO_2/сутки), что обеспечивает отрицательный углеродный след на уровне приблизительно – 226,5 т CO_2 в год и подтверждает целесообразность применения таких ферм для секвестрации углерода в условиях умеренного климата. Однако достижение указанной продуктивности требует использования штаммов, устойчивых к загрязнителям, содержащимся в дымовых газах и сточных водах, а также к колебаниям pH и температуры. В связи с этим закрытые фотобиореакторы представляют собой реалистичный, но технически сложный путь к производству биомассы с отрицательным углеродным балансом в умеренных широтах.

Ключевые слова: микроводоросли, секвестрация углерода, фотобиореактор, углеродный след, дымовые газы, умеренный климат

Для цитирования: Хлебова Д.Л., Галиева Г.Ш., Стаценко Е.А., Галицкая П.Ю., Селивановская С.Ю. Оценка возможности создания водорослевых ферм для улавливания углекислого газа в климатических условиях Средней полосы России // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - С. 405-419. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-405

1. Введение

Стремление смягчить последствия изменения климата стимулировало разработку различных технологий улавливания и хранения углерода - от геологического захоронения CO_2 до биологических подходов к секвестрации. Среди биологических методов особое внимание привлекает использование микроводорослей (одноклеточных зеленых водорослей и, реже, цианобактерий) для улавливания углерода. Фотосинтетическая эффективность микроводорослей достигает 10-20 %, что значительно превосходит аналогичный показатель наземных растений, включая леса (1-2%), и делает микроводоросли привлекательным объектом для биотехнологии секвестрации углерода (Singh and Ahluwalia, 2013).

Зеленые микроводоросли (*Chlorophyta*) обитают как в морских, так и в пресных водах. Они характеризуются высокими темпами роста и способностью улавливать CO_2 из атмосферы, промышленных дымовых газов или растворенных карбонатов в водных экосистемах (Klinthong et al., 2015). Наиболее подробно изученными родами являются *Chlorella*, *Scenedesmus* и *Botryococcus*, которые широко исследуются на предмет применения в нейтрализации углерода, производстве биотоплива и синтезе биопродуктов с высокой добавленной стоимостью (Wang et al., 2022). Помимо *Chlorophyta*, для целей биоремедиации CO_2 изучались и другие группы микроводорослей, например кокколитофориды (Moheimani, 2005). Цианобактерии (сине-зеленые водоросли) являются прокариотами, однако содержат хлорофилл и способны к фотосинтезу; подобно

*Автор для переписки. Адрес e-mail: khlebova.darya@mail.ru (Д.Л. Хлебова)

Поступила: 30 июня 2026;
Принята после доработки: 10 августа 2026;
Опубликована online: 28 августа 2026

© Автор(ы) 2026. Эта работа распространяется под международной лицензией Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.

зеленым микроводорослям, они быстро наращивают биомассу и, кроме того, проявляют высокую устойчивость к эвтрофикации и химическому загрязнению.

Фотосинтез у зеленых микроводорослей включает две фазы: светозависимую, в ходе которой солнечная энергия возбуждает молекулы хлорофилла и обеспечивает синтез АТФ и НАДФН, и светонезависимую (цикл Кальвина), в которой фермент рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилаза/оксигеназа (RuBisCO) фиксирует CO_2 с образованием органических соединений (Masojídek et al., 2013). Связанный углерод накапливается в виде углеводов, липидов или внеклеточных соединений, которые в дальнейшем могут быть использованы в хозяйственных целях. Эффективность фиксации CO_2 зависит от сочетания таких факторов, как интенсивность освещения, температура, концентрация CO_2, pH и доступность питательных веществ; оптимизации этих параметров посвящен обширный массив работ в области процессной инженерии (Bhola et al., 2014; Li et al., 2023).

Для реализации секвестрации углерода с использованием микроводорослей создаются так называемые водорослевые фермы. Наиболее распространенными конструкциями являются открытые пруды и закрытые фотобиореакторы. Открытые пруды, широко применяемые благодаря низкой стоимости, представляют собой неглубокие бассейны, оборудованные колесными мешалками для максимального улавливания света и подачи CO_2; их основными недостатками являются уязвимость к загрязнению и потери воды за счет испарения. Закрытые фотобиореакторы (ФБР) дороже в строительстве и эксплуатации, однако лишены перечисленных недостатков и, кроме того, обеспечивают более точный контроль интенсивности освещения, температуры и концентрации CO_2, что приводит к повышению выхода биомассы (или других полезных продуктов) (Bhola et al., 2014). Конструкции фотобиореакторов весьма разнообразны – среди них трубчатые, плоскопанельные и барботажные колонные установки, – причем выбор конструкции существенно влияет на эффективность массопереноса CO_2 и общую продуктивность (Fu et al., 2019). Действующие в настоящее время водорослевые фермы значительно различаются по продуктивности, получаемой продукции и географическому расположению (Таблица 1).

В целом глобальное распределение водорослевых ферм существенно различается между регионами с жарким и умеренным климатом. В районах с жарким климатом – включая отдельные штаты США (например, Флорида, Калифорния), Австралию, Индию и страны Юго-Восточной Азии – сосредоточено значительное число водорослевых ферм, поскольку эти территории обеспечивают достаточную инсоляцию и температуру для роста водорослей; такие страны, как Индия и Китай, активно инвестируют в крупномасштабные проекты по культивированию водорослей, используя преимущества своего теплого климата. В регионах с умеренным климатом, включая отдельные районы Центральной Европы (например, Германия, Нидерланды), Японию, а также некоторые территории Северной Америки, количество водорослевых ферм заметно ниже. Более низкие температуры и уменьшенная инсоляция в этих регионах требуют применения передовых технологий культивирования, таких как закрытые фотобиореакторы с поддержанием оптимальных условий роста, что часто приводит к повышению эксплуатационных затрат и может ограничивать более широкое внедрение. В целом примерно 60-70% коммерческих предприятий по производству микроводорослей расположены в регионах с жарким климатом и 30-40% – в регионах с умеренным климатом (Spolaore et al., 2006).

Таблица 1. Примеры водорослевых ферм с различными характеристиками (Fu et al., 2019; Ramaraj et al., 2014).

Название фермы	Местоположение	Технология	Производительность по CO_2	Год основания	Дополнительное использование
Algenol Biotech	Флорида, США	Закрытые фотобиореакторы	~60 тонн CO_2/га/год	2006	Биотопливо, нутрицевтики
Проект RITE	Япония	Открытые пруды	~1 г CO_2/л/день	1990	Производство водорода, очистка сточных вод
BioSolar Cells	Нидерланды	Фотовольтаически поддерживаемые фотобиореакторы	~75 тонн CO_2/га/год	2010	Промышленные сырье, пигменты
Пруд Tsinghua Raceway	Китай	Открытый пруд	~30 тонн CO_2/га/год	1985	Корм для животных
Консорциум в Швеции	Швеция	Гибридная система прудов	~50 тонн CO_2/га/год	2021	Биоудобрения, переработка из сточных вод
ИнБЮМ РАН	Севастополь, Россия	Альгобиотехнический модуль	Эксперимента-льная установка, данные о производитель-ности отсутствуют	2023	Разработка рекомендаций для промышленного культивирования микроводорослей

Примечание. Для проекта RITE продуктивность приведена в объемных единицах (г CO_2/л/день), поскольку первоисточник не содержит данных о площади и рабочем объеме установки; эта величина напрямую несопоставима с площадными значениями (т CO_2/га/год), приведенными для остальных ферм.

В России исследования видов и свойств микроводорослей, а также перспектив их промышленного культивирования, в том числе для целей секвестрации углерода, проводятся в Институте физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук (Москва), в Институте биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН (ИБСС РАН, Севастополь), в Казанском (Приволжском) федеральном университете (Казань), а также в ряде других научно-исследовательских учреждений. В ходе поиска литературы сведений о коммерческих водорослевых фермах выявлено не было; однако обнаружены несколько опытно-экспериментальных установок. В ИБСС РАН (Севастополь) разработан и введен в эксплуатацию пилотный альгобиотехнический модуль для оценки продуктивности различных культур микроводорослей в разные сезоны года; полученные результаты предназначены для выработки рекомендаций по промышленному культивированию. Компания «Биотехрос» (Москва) разрабатывает технологии культивирования микроводорослей для производства биотоплива и кормовых добавок с целью создания промышленных объектов для массового выращивания микроводорослей. Проект «Альгобиотех» (Пенза) ориентирован на разработку и внедрение технологий культивирования для производства биологически активных добавок, косметической продукции и кормов для животных, при этом работа ведется в сотрудничестве с научно-исследовательскими институтами для оптимизации процессов культивирования и переработки.

Признанным подходом к повышению экономической и экологической эффективности водорослевых ферм является совместное использование промышленных дымовых газов в качестве источника CO_2 и сточных вод – как источника азота и фосфора, поскольку это позволяет одновременно решать две экологические проблемы –выбросы CO_2 и биогенную нагрузку сточных вод – в рамках единого технологического процесса (Ji et al., 2013; Wang et al., 2022). Биофиксация дымовых газов теплоэлектростанций с помощью микроводорослей рассматривается как перспективное направление промышленного снижения выбросов CO_2, хотя при этом требуется учитывать состав газа и сопутствующие примеси (Singh et al., 2019). Приведенный ниже расчет основан на данном комплексном подходе.

Цель настоящей работы – оценить возможность использования ферм по выращиванию микроводорослей в качестве альтернативной технологии секвестрации углерода в условиях умеренной климатической зоны Центральной России. Для этого рассчитан углеродный баланс для модельной фермы, репрезентативной для данного региона, и проанализированы условия эксплуатации, необходимые для ее практической реализации.

2. Материалы и методы

Поскольку в настоящее время в условиях умеренного климата Центральной России не действует ни одной коммерческой водорослевой фермы, был выполнен репрезентативный инженерный расчет для гипотетической фермы среднего размера в соответствии с подходом, типичным для технико-экономической оценки целесообразности биотехнологических установок (Fu et al., 2019; Abdur Razzak et al., 2024).

Предполагалось, что модельная ферма использует вертикальный трубчатый фотобиореактор, размещенный в закрытом сооружении оранжерейного типа, – такая конфигурация предпочтительна для умеренного климата благодаря более эффективному контролю освещенности, температуры и концентрации CO_2 по сравнению с открытыми прудами (Bhola et al., 2014; Fu et al., 2019). Типичные размеры труб были приняты равными 5 см в диаметре и 2,3 м в высоту. Полезная площадь оранжереи была задана равной 100 м^2, из которых 40 м^2 занимают проходы и промежутки между рядами труб. На оставшейся рабочей площади (60 м^2) трубы размещены в два вертикальных яруса на стеллажах: горизонтальная проекция оснований труб занимает приблизительно одну треть рабочей площади ($\approx$21,7 м^2), а остальные две трети остаются свободными для доступа света и обслуживания. При принятом внутреннем диаметре труб общее число труб составляет около 22 000 (объем одной трубы $\approx$4,5 л), что в сумме дает объем культуральной жидкости приблизительно 100 м^3. Вертикальное ярусное размещение позволяет разместить требуемый освещаемый объем культуры на ограниченной площади без чрезмерно плотной упаковки труб в одной плоскости (Fu et al., 2019).

Источником CO_2 для фермы предполагались дымовые газы теплоэлектростанции (ТЭС), смешанные с атмосферным воздухом, что одновременно обеспечивает подогрев культуральной среды до оптимальной температуры; биофиксация дымовых газов ТЭС с помощью микроводорослей является признанной стратегией промышленного снижения выбросов CO_2 (Singh et al., 2019). Дымовые газы отбираются из газохода ТЭС (после системы газоочистки) через байпасный отвод и подаются к ферме газодувкой по трубопроводу; отбор части потока на уровне газохода, а не из устья дымовой трубы, является стандартным приемом при биофиксации дымовых газов (Singh et al., 2019; Li et al., 2026) и не требует изменения высотной схемы дымоудаления ТЭС. Поступление питательных веществ предполагалось за счет неочищенных городских сточных вод, разбавленных частично очищенными сточными водами; такой подход согласуется с опубликованными исследованиями по культивированию микроводорослей в городских и промышленных сточных водах для одновременного удаления биогенных элементов и получения биомассы (Ji et al., 2013; Wang et al., 2022). В качестве иллюстративного примера размещения такая ферма могла бы быть расположена в городе Казани, между теплоэлектроцентралью ТЭЦ-1 и городскими очистными сооружениями «Водоканал», которые находятся в непосредственной близости друг от друга. Общий принцип работы фермы показан на Рис. 1.

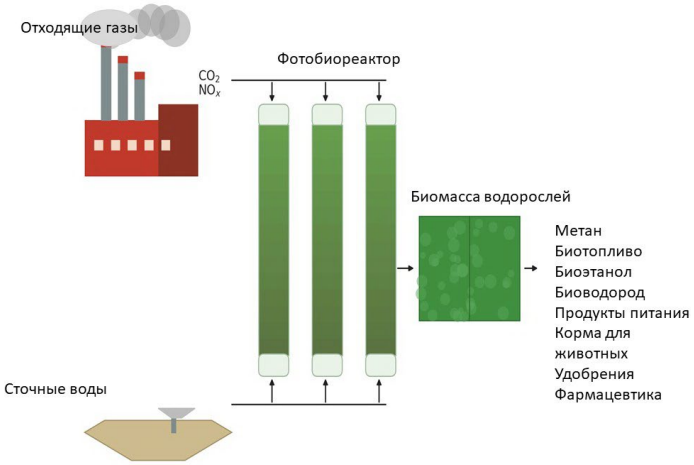


Рис.1. Общая принципиальная схема работы водорослевой фермы с использованием дымовых газов и сточных вод в качестве источников углерода и питательных веществ.

Продуктивность по биомассе была принята равной 3,5 г/л в сутки, а удельное энергопотребление – 207 МДж/м^2 в год на основании опубликованных данных по культивированию микроводорослей в фотобиореакторах (Abdur Razzak et al., 2024). Значение 3,5 г/л/сут представляет собой верхнюю границу продуктивности в оптимизированных условиях, а не измеренную величину для конкретного штамма; использование городских сточных вод как источника органического углерода допускает миксотрофное культивирование, при котором продуктивность биомассы может в 2–5 раз превышать характерную для чисто фотоавтотрофного роста (Pang et al., 2019), а достижение принятого уровня требует подбора и, при необходимости, адаптации штамма. В настоящем расчете предполагалось, что биомасса используется в качестве корма для животных; данное допущение не влияет на сам расчет углеродного баланса, хотя альтернативные способы переработки биомассы рассматриваются в разделе «Обсуждение».

Углеродный след фермы рассчитывался как разность между количеством CO_2, поглощенного в процессе фотосинтеза, и объемом CO_2, выброшенного в результате энергопотребления и очистки воды в ходе эксплуатации, с использованием следующих этапов:

(1) Суточная продукция биомассы = продуктивность (г/л в сутки) × объем жидкости в реакторе (л).

(2) Суточная фиксация углерода = суточная продукция биомассы × содержание углерода в сухой биомассе (принято равным 50 %, что соответствует типичному биохимическому составу биомассы микроводорослей; Masojídek et al., 2013).

(3) Суточное поглощение CO_2 = суточная фиксация углерода × 44/12 (стехиометрическое массовое соотношение CO_2 и C).

(4) Суточные выбросы CO_2, связанные с энергопотреблением = (удельное годовое энергопотребление × полезная площадь / 365) × коэффициент выбросов для тепловой генерации (принят равным 0,25 кг CO_2/МДж, что является репрезентативным средним значением для генерации на ископаемом топливе).

(5) Суточные выбросы CO_2 при очистке воды = суточный объем супернатанта (отработанной культуральной жидкости), образующегося при сборе биомассы и требующего доочистки перед сбросом × удельный коэффициент выбросов для очистки воды и перекачки (принят равным 5 кг CO_2/м^3 как консервативная верхняя оценка).

(6) Чистый суточный углеродный след = суточное поглощение CO_2 − (суточные выбросы от энергопотребления + суточные выбросы от очистки воды).

Полученное суточное значение экстраполировалось на годовой углеродный след путем умножения на 365 дней.

Дополнительно, для оценки влияния сезонности, был выполнен сценарный расчет, в котором продуктивность по биомассе задавалась пропорционально среднемесячной инсоляции для г. Казани (≈55,8° с.ш.; данные PVGIS/Global Solar Atlas) с нормировкой на летний максимум, соответствующий проектной продуктивности 3,5 г/л/сут. Подогрев культуры в холодный период принимался обеспечиваемым сбросным теплом дымовых газов, а искусственное досвечивание на проектном уровне не предполагалось ввиду связанного с ним отрицательного энергетического баланса (Slade and Bauen, 2013). Годовой углеродный баланс рассчитывался как сумма посуточных значений по всем месяцам.

3. Результаты

Суточная продукция биомассы модельной фермы составляет 3,5 г/л в сутки × 100 000 л = 350 кг в сутки. При содержании углерода примерно 50% от сухой биомассы соответствующая суточная фиксация углерода равна 175 кг C в сутки. Пересчет в CO_2 с использованием стехиометрического коэффициента 44/12 ≈ 3,67 дает суточное фотосинтетическое поглощение CO_2, равное 175×3,67 ≈ 642,25 кг CO_2 в сутки, что соответствует приблизительно 234,4 т CO_2 в год.

Общее годовое энергопотребление фермы составляет 207 МДж/м² в год × 100 м² = 20 700 МДж в год, или 56,71 МДж в сутки. При коэффициенте выбросов для тепловой генерации, равном 0,25 кг CO_2/МДж, соответствующие суточные выбросы CO_2 от энергопотребления составляют $56{,}71 \times 0{,}25 \approx$ 14,18 кг CO_2 в сутки.

Ферма требует доочистки примерно 1,5 м³ супернатанта — отработанной культуральной жидкости, образующейся при суточном сборе биомассы, — в сутки (значение принято как репрезентативная оценка для реактора данного объема). При удельном коэффициенте выбросов, равном 5 кг CO_2/м³, соответствующие суточные выбросы CO_2 от очистки воды и перекачки составляют $1{,}5 \times 5 = 7{,}5$ кг CO_2 в сутки.

Результирующий углеродный баланс модельной фермы представлен в Таблице 2. Суммарные суточные выбросы CO_2 (от энергопотребления и очистки воды) составляют 14,18 + 7,5 = 21,68 кг CO_2 в сутки, тогда как суточное поглощение CO_2 в процессе фотосинтеза равно 642,25 кг CO_2 в сутки. Таким образом, чистый углеродный след составляет 642,25 − 21,68 ≈ 620,57 кг CO_2 в сутки, или приблизительно −226,5 т CO_2 в год (отрицательное значение указывает на нетто-секвестрацию углерода).

Таким образом, углеродный след смоделированной водорослевой фермы является отрицательным, что подтверждает принципиальную возможность создания такой фермы для секвестрации углерода в условиях умеренного климата Центральной России. Следует отметить, что расчет неизбежно носит упрощенный характер: он не учитывает возможность переработки собранной биомассы в продукты с более высокой добавленной стоимостью или в энергоносители и предполагает сравнительно высокую (хотя и не максимальную) продуктивность по биомассе, достижимую лишь при использовании эффективных штаммов микроводорослей, культивируемых в условиях, близких к оптимальным.

Приведенный выше расчет соответствует проектным (оптимальным) условиям эксплуатации. Поскольку в умеренном климате Центральной России инсоляция и температура существенно изменяются по сезонам, был выполнен дополнительный сезонный сценарный расчет годового углеродного баланса (Таблица 3). В нем принято, что подогрев культуры обеспечивается сбросным теплом дымовых газов и не создает дополнительных выбросов, а продуктивность следует за естественной инсоляцией (без искусственного досвечивания на проектном уровне, поскольку последнее ведет к отрицательному энергобалансу; Slade and Bauen, 2013). При этих допущениях среднегодовая продуктивность снижается, и чистый углеродный след составляет приблизительно −115 т CO_2 в год, т.е. примерно вдвое меньше проектного значения (−226,5 т CO_2/год), но остается отрицательным. Таким образом, сезонность существенно снижает, но не отменяет секвестрационный потенциал фермы.

Таблица 2. Углеродный баланс модельной водорослевой фермы.

Показатель	Значение
Суточная продукция биомассы	350 кг/сутки
Суточное поглощение CO_2 (фотосинтез)	642,25 кг CO_2/сутки (≈234,4 т CO_2/год)
Суточные выбросы CO_2 - энергопотребление	14,18 кг CO_2/сутки
Суточные выбросы CO_2 - очистка воды	7,50 кг CO_2/сутки
Суммарные суточные выбросы CO_2	21,68 кг CO_2/сутки
Чистый суточный углеродный след	–620,57 кг CO_2/сутки
Чистый годовой углеродный след	≈ –226,5 т CO_2/год

4. Обсуждение

Нормированное по площади валовое поглощение CO_2 модельной фермой (≈234,4 т CO_2/год с площади 100 м², т.е. 0,01 га) существенно превышает показатели продуктивности на гектар, зафиксированные для систем с открытыми прудами и плоскими фотобиореакторами, перечисленных в Таблице 1, таких как цинхуаский пруд с круговым течением (≈30 т CO_2/га/год), гибридная прудовая система шведского консорциума (≈50 т CO_2/га/год), Algenol Biotech (≈60 т CO_2/га/год) или BioSolar Cells (≈75 т CO_2/га/год). Данное различие согласуется с признанным преимуществом вертикальных трубчатых фотобиореакторов, которые благодаря размещению большого освещаемого объема культуры на малой площади позволяют достичь значительно более высокой объемной и удельной (на единицу площади) продуктивности по сравнению с мелководными открытыми системами (Fu et al., 2019; Abdur Razzak et al., 2024; Li et al., 2023). В то же время к данному сравнению следует относиться с осторожностью, поскольку значение продуктивности, использованное в настоящем расчете, соответствует оптимизированному режиму работы фотобиореактора, а не данным, полученным на действующей ферме в российских климатических условиях.

Существенно более высокая нормированная на площадь величина модельной фермы по сравнению с фермами, приведенными в Таблице 1, объясняется прежде всего тем, что значения Таблицы 1 отражают средние эксплуатационные показатели действующих ферм с учетом простоев, сезонности и неоптимальных условий, тогда как в настоящем расчете использованы пиковая продуктивность оптимизированного режима и вертикальное ярусное размещение большого освещаемого объема культуры на малой площади (объемная, а не площадная продуктивность мелководных прудов). Приведенный выше сезонный сценарий (Таблица 3) дает более реалистичную нижнюю оценку.

Таблица 3. Сезонный углеродный баланс модельной водорослевой фермы (г. Казань).

Период	Число суток	Средняя продуктивность, г/л/сут	Валовое поглощение CO_2 кг/сут	Чистый след, кг/сут	Вклад в годовой баланс, т/год
Лето (июнь–август)	92	3,22	591	569	52,4
Весна/осень (апрель, май, сентябрь, октябрь)	122	2,08	382	361	44,0
Зима (ноябрь–март)	151	0,81	148	126	19,1
Итого за год	365	—	—	—	≈ −115 (нетто)

Для контекста полезно сравнение с лесовосстановлением: типичная нетто-секвестрация умеренных лесов составляет приблизительно 2–10 т CO_2/га/год (в среднем ≈3,7 т CO_2/га/год) (Pan et al., 2011). Модельная ферма секвестрирует ≈115–226 т CO_2/год с площади 0,01 га, что на порядки больше в пересчете на занимаемую площадь; однако это достигается ценой значительных капитальных и эксплуатационных затрат и энергопотребления, тогда как лесовосстановление обеспечивает секвестрацию практически без эксплуатационных затрат и дает сопутствующие экосистемные услуги. Поэтому водорослевые фермы наиболее целесообразны там, где земельный ресурс ограничен, а точечные источники CO_2 и биогенных элементов доступны, и должны рассматриваться как дополнение, а не замена лесовосстановлению.

В настоящем расчете предполагается, что собранная биомасса используется в качестве корма для животных, что упрощает углеродный баланс, но не отражает полного потенциала экономической и экологической выгоды фермы. Культивирование в условиях азотного лимитирования может существенно повысить содержание внутриклеточных липидов, как было показано для *Parachlorella kessleri* TY02 (Gao et al., 2019) и для пресноводного вида *Scenedesmus* sp. LX1, выращенного на вторично очищенных сточных водах (Xin et al., 2010), что указывает на возможность использования режимов культивирования, ориентированных на накопление липидов, для производства сырья для биодизеля на той же ферме дополнительно к кормовой биомассе или вместо нее. Также продемонстрирована очистка биогаза (апгрейд биометана) с использованием хлорофиллсодержащих микроводорослей (Dyachok et al., 2022), что открывает дополнительный путь для интеграции предлагаемой фермы с предприятиями по производству биогаза, которые сами по себе являются потенциальным источником CO_2 и тепла. Включение таких вариантов использования биомассы с высокой добавленной стоимостью или энергетической направленностью, как ожидается, улучшит как углеродный, так и экономический баланс фермы по сравнению с консервативным сценарием использования в качестве корма, рассмотренным в данной работе.

Следует также учитывать, что при использовании реальных дымовых газов и сточных вод биомасса может накапливать тяжелые металлы (Cu, Zn, Pb, Cd, As, Ni, Hg и др.) и другие загрязнители, причем их накопление происходит преимущественно в биомассе, а не в культуральной среде (Napan et al., 2015; Yang et al., 2025). Это может ограничивать применение биомассы в кормовых и пищевых цепочках и требует регулярного контроля ее соответствия нормативам по содержанию тяжелых металлов в кормах. При превышении нормативов биомассу целесообразно направлять на некормовые пути переработки - производство биодизеля, биогаза или (при соответствии требованиям) биоудобрения, что согласуется с рассмотренными выше вариантами ее использования.

Перевод рассчитанного углеродного баланса в действующую установку потребует преодоления нескольких практических барьеров. Достижение принятой продуктивности на реальных дымовых газах и сточных водах в качестве питательной среды требует использования штаммов микроводорослей, устойчивых к SO_2, NO_x, тяжелым металлам, а также к колебаниям pH и температуры, характерным для промышленных стоков, – это требование в недавних обзорах обозначено как сохраняющееся узкое место, ограничивающее переход технологии фотобиореакторов от лабораторного к промышленному масштабу (Cheng et al., 2025; Yang et al., 2025). В случаях, когда естественная устойчивость недостаточна, адаптивная лабораторная эволюция предлагает путь ее развития у перспективных штаммов (Zhang et al., 2021), причем осуществимость такого подхода недавно была продемонстрирована в пилотном масштабе, где штамм микроводорослей, отобранный по устойчивости к промышленному концентрату обратного осмоса и реальным дымовым газам, обеспечивал стабильное удаление биогенных элементов и фиксацию CO_2 в трубчатом фотобиореакторе объемом 6000 л (Li et al., 2026). Проведение аналогичного подбора штаммов и пилотной валидации, для которой альгобиотехнический модуль ИБСС РАН в Севастополе представляет собой ближайший существующий российский аналог, а также экономическая оценка эксплуатационных затрат в условиях умеренного климата являются необходимыми предпосылками для перехода от расчета к практической реализации рассматриваемой фермы.

5. Выводы

Рассчитанный углеродный след смоделированной водорослевой фермы – вертикального трубчатого фотобиореактора полезной площадью 100 м^2, работающего на дымовых газах теплоэлек-

тростанции и городских сточных водах – является отрицательным и составляет примерно –226,5 т CO_2 в год, что подтверждает принципиальную возможность использования ферм по выращиванию микроводорослей для секвестрации углерода в условиях умеренного климата Центральной России. Нормированная по площади продуктивность смоделированного закрытого фотобиореактора существенно превышает типичное гектарное поглощение CO_2, зафиксированное для систем с открытыми прудами, что согласуется с признанным преимуществом вертикальных трубчатых фотобиореакторов в продуктивности. Достижение принятой продуктивности на практике требует подбора, а при необходимости – адаптации штаммов микроводорослей, устойчивых к загрязнителям, содержащимся в дымовых газах (SO_2, NO_x, тяжелые металлы) и сточных водах, а также к сопутствующим колебаниям pH и температуры. Переработка собранной биомассы в продукты с более высокой добавленной стоимостью, такие как липидообогащенная биомасса для производства биодизеля или ее использование при очистке биогаза, представляет собой дополнительное направление для улучшения как углеродного, так и экономического баланса предлагаемой технологии и должна быть рассмотрена в будущих исследованиях, наряду с пилотной валидацией по аналогии с альгобиотехническим модулем ИБСС РАН. Дополнительно проведенный сезонный сценарный расчет для условий г. Казани показывает, что при эксплуатации, следующей за естественной инсоляцией, среднегодовая нетто-секвестрация снижается примерно вдвое (до ≈ -115 т CO_2/год), но сохраняет отрицательный знак, что подтверждает устойчивость сделанного вывода к учету сезонности.

Благодарность

Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету на выполнение государственного задания в сфере научной деятельности, проект № FZSM-2024-0004.

Конфликт интересов

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

Abdur Razzak S., Bahar K., Islam K.M.O. et al. 2024. Microalgae cultivation in photobioreactors: sustainable solutions for a greener future. Green Chemical Engineering 5(4): 418–439. DOI: 10.1016/j.gce.2023.10.004

Bhola V., Swalaha F., Ranjith Kumar R. et al. 2014. Overview of the potential of microalgae for CO_2 sequestration. International Journal of Environmental Science and Technology 11(7): 2103–2118. DOI: 10.1007/s13762-013-0487-6

Cheng H., Liu Y., Deng Z. et al. 2025. The potential microalgae-based strategy for attaining carbon neutrality and mitigating climate change: a critical review. Frontiers in Marine Science 12: 1644390. DOI: 10.3389/fmars.2025.1644390

Dyachok V., Venher L., Huhlych S. 2022. The biomethanization gas purification using chlorophyll-synthesizing microalgae. Journal of Ecological Engineering 23(9): 259–264. DOI: 10.12911/22998993/151990

Fu J., Huang Y., Liao Q. et al. 2019. Photo-bioreactor design for microalgae: A review from the aspect of CO_2 transfer and conversion. Bioresource Technology 292: 121947. DOI: 10.1016/j.biortech.2019.121947

Gao Y., Feng J., Lv J. et al. 2019. Physiological changes of *Parachlorella kessleri TY02* in lipid accumulation under nitrogen stress. International Journal of Environmental Research 16(7): 1188. DOI: 10.3390/ijerph16071188

Ji M.K., Abou-Shanab R.A.I., Kim S.H. et al. 2013. Cultivation of microalgae species in tertiary municipal wastewater supplemented with CO_2 for nutrient removal and biomass production. Ecological Engineering 58: 142–148. DOI: 10.1016/j.ecoleng.2013.06.020

Klinthong W., Yang Y.H., Huang C.H. et al. 2015. A review: Microalgae and their applications in CO_2 capture and renewable energy. Aerosol and Air Quality Research 15(2): 712–742. DOI: 10.4209/aaqr.2014.11.0299

Li G., Xiao W., Yang T. et al. 2023. Optimization and process effect for microalgae carbon dioxide fixation technology applications based on carbon capture: A comprehensive review. Journal of Carbon Research 9(1): 35. DOI: 10.3390/c9010035

Li J., Wu Y., Liang S. et al. 2026. Microalgae-mediated treatment of steel industry reverse osmosis concentrate integrated with flue gas carbon fixation: From laboratory selection to pilot-scale verification. Water Research 288: 124561. DOI: 10.1016/j.watres.2025.124561

Masojídek J., Torzillo G., Koblízek M. 2013. Photosynthesis in microalgae. In: Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology, 2nd Edition, pp. 21–36. DOI: 10.1002/9781118567166.ch2

Moheimani N.R. 2005. The Culture of Coccolithophorid Algae for Carbon Dioxide Bioremediation. Thesis, Murdoch University, Australia.

Napan K., Teng L., Quinn J.C. et al. 2015. Impact of heavy metals from flue gas integration with microalgae production. Algal Research 8: 83–88. DOI: 10.1016/j.algal.2015.01.003

Pan Y., Birdsey R.A., Fang J. et al. 2011. A large and persistent carbon sink in the world's forests. Science 333(6045): 988–993. DOI: 10.1126/science.1201609

Pang N., Gu X., Chen S. et al. 2019. Exploiting mixotrophy for improving productivities of biomass and co-products of microalgae. Renewable and Sustainable Energy Reviews 112: 450–460. DOI: 10.1016/j.rser.2019.06.001

Ramaraj R., Tsai D.D.W., Chen P.H. 2014. Freshwater microalgae niche of air carbon dioxide mitigation. Ecological Engineering 68: 47–52. DOI: 10.1016/j.ecoleng.2014.03.058

Singh H.M., Kothari R., Gupta R. et al. 2019. Bio-fixation of flue gas from thermal power plants with algal biomass: Overview and research perspectives. Journal of Environmental Management 245: 519–539. DOI: 10.1016/j.jenvman.2019.01.043

Singh U.B., Ahluwalia A.S. 2013. Microalgae: a promising tool for carbon sequestration. Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change 18(1): 73–95. DOI: 10.1007/s11027-012-9393-3

Slade R., Bauen A. 2013. Micro-algae cultivation for biofuels: Cost, energy balance, environmental impacts and future prospects. Biomass and Bioenergy 53: 29–38. DOI: 10.1016/j.biombioe.2012.12.019

Spolaore P., Joannis-Cassan C., Duran E. et al. 2006. Commercial applications of microalgae. Journal of Bioscience and Bioengineering 101(2): 87–96. DOI: 10.1263/jbb.101.87

Wang Q., Wang X., Hong Y. et al. 2022. Microalgae cultivation in domestic wastewater for wastewater treatment and high value-added production: Species selection and

comparison. Biochemical Engineering Journal 185: 108493. DOI: 10.3390/pr13072052

Xin L., Hong-Ying H., Jia Y. 2010. Lipid accumulation and nutrient removal properties of a newly isolated freshwater microalga, *Scenedesmus sp. LX1*, growing in secondary effluent. New Biotechnology 27(1): 59–63. DOI: 10.1016/j.nbt.2009.11.006

Yang X.-Y., Wei Y.-X., Su Y.-Q. et al. 2025. The strategies microalgae adopt to counteract the toxic effect of heavy metals. Microorganisms 13(5): 989. DOI: 10.3390/microorganisms13050989

Zhang B., Wu J., Meng F. 2021. Adaptive laboratory evolution of microalgae: A review of the regulation of growth, stress resistance, metabolic processes, and biodegradation of pollutants. Frontiers in Microbiology 12: 737248. DOI: 10.3389/fmicb.2021.737248

Original Article
LIMNOLOGY FRESHWATER BIOLOGY

Tolerance of regional microalgae strains from the Republic of Tatarstan to heavy metal and acid gas contaminants: implications for carbon capture applications

Galieva G.Sh.*, Khlebova D.L., Kornilova D.N., Galitskaya P.Y., Selivanovskaya S.Y.

Kazan Federal University, Kazan, Republic of Tatarstan, 420008, Russia

ABSTRACT. Green microalgae are attractive biological agents for capturing carbon dioxide from industrial flue gas and for growth on partially treated wastewater, but this dual-source cultivation strategy exposes cultures to heavy metals and the acidic gases sulfur dioxide (SO_2) and nitrogen oxides (NO_x). This study assessed the lead (Pb), cadmium (Cd), SO_2, and NO_x tolerance of nine microalgal strains (*Chlamydomonas* sp., *Chlorococcum* sp., *Edaphochlamys debaryana*, *Chlorella* sp., *Chlamydomonas moewusii*, *Chlorella vulgaris*, and *Spongiosarcinopsis* sp.), isolated in 2024 from various water bodies and surfaces in the Republic of Tatarstan, Russia, and was aimed at selecting the most tolerant strain for further development as a carbon-sequestering candidate. Sampling sites were characterized by redox potential (EMF, 27-1518 mV), pH (6.4-8.0) and spectral absorption coefficient (color of water). EC_{50} values, determined by dose-response assays, ranged from 31.1 to 238.5 mg/L for Pb and from 8.3 to 176.3 mg/L for Cd, generally exceeding literature values reported for the same or related taxa. Sensitivity to 50 ppm SO_2 and 50 ppm NO_x was low across all isolates, whereas 100 ppm NO_x and 100 ppm NO_2 produced significant growth inhibition in three and five isolates, respectively. A point-scoring procedure integrating Pb, Cd, and gas tolerance identified *Chlorella vulgaris* (isolate 14) as the best-performing strain overall (35 of a maximum 36 points), combining the highest Pb tolerance, a near-maximum Cd tolerance, and complete tolerance across all tested gas conditions. These findings support *Chlorella vulgaris* as the primary candidate among the isolates examined for further evaluation in the flue gas- and wastewater-based microalgal cultivation systems.

Keywords: microalgae, heavy metal tolerance, EC50, flue gas, SO_2/NO_x toxicity, carbon sequestration

For citation: Galieva G.Sh., Khlebova D.L., Kornilova D.N., Galitskaya P.Y., Selivanovskaya S.Y. Tolerance of regional microalgae strains from the Republic of Tatarstan to heavy metal and acid gas contaminants: implications for carbon capture applications // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - P. 420-436. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-420

1. Introduction

Mitigating climate change has stimulated the active development of carbon capture and storage technologies, ranging from geological CO_2 storage to biological sequestration approaches. Among the latter, green microalgae (*Chlorophyta*) are regarded as particularly promising carbon sequestrators because they accumulate biomass considerably faster than terrestrial plants. Under optimal conditions, microalgae convert solar energy into biomass several times more efficiently than terrestrial crops and forests, owing to the absence of non-photosynthetic structural tissue, the possibility of year-round growth, and highly efficient CO_2-concentrating mechanisms (Subramanian and Sayre, 2022). This higher productivity, together with the capacity of microalgae to assimilate CO_2 directly from concentrated industrial flue gas streams, makes them attractive candidates for the biological capture of carbon from industrial emissions, supplementing the currently used physicochemical carbon capture technologies.

The scale of the problem that such technologies should address is substantial. Global energy- and industry-related CO_2 emissions reached a new record of 37.8 gigatons in 2024, with the combustion of fossil

*Corresponding author. E-mail address: goolnaz0708@yandex.ru (G.Sh. Galieva)

Received: July 02, 2026;
Accepted after revised: July 28, 2026;
Available online: August 28, 2026

© Author(s) 2026. This work is distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

fuels at thermal power plants and other industrial facilities accounting for most of this volume (IEA, 2025). Diverting even a modest share of these emissions into microalgal biomass production therefore represents a meaningful contribution to climate change mitigation, provided that the cultivation process itself remains both technically feasible and economically viable.

A widely adopted strategy for improving the economic feasibility of microalgae-based carbon capture is to combine flue gas utilization with the use of partially treated (undertreated) municipal or industrial wastewater as a cultivation medium, since wastewater simultaneously supplies the nitrogen, phosphorus, and trace elements required for microalgal growth while reducing the cost of conventional tertiary wastewater treatment (Wang et al., 2022; Lee et al., 2022).

This dual-source cultivation strategy, however, inevitably exposes microalgal cultures to a range of toxicants present in both flue gas and undertreated wastewater, most notably heavy metals and acidic gases such as sulfur dioxide (SO_2) and nitrogen oxides (NO_x). Heavy metals such as chromium, lead, cadmium, arsenic, nickel, and zinc enter flue gas during the combustion of coal and other solid or liquid fuels, with documented sources, including coal-fired thermal power plants, metal sintering, and smelting operations, as well as municipal solid waste incineration (Chen et al., 2021; Wang and Zhang, 2021; Zhao et al., 2024), while their accumulation in microalgal cultivation media supplied with flue gas was quantified directly in dedicated process studies (Napan et al., 2015). Elevated concentration of the same metals, together with copper and mercury, are commonly found in industrial wastewater originating from electroplating, mining, tanning, and battery manufacturing and metal-finishing industries (Oladimeji et al., 2024). Sulfur and nitrogen oxides, in turn, are generated mainly through fossil fuel combustion at thermal power plants and in vehicle exhaust. Their presence in flue gas is a recognized constraint on the CO_2 bio-fixation by microalgae and was reported to inhibit or, depending on concentration and exposure time, stimulate algal growth (Singh et al., 2019; Taştan et al., 2012).

For the practical development of microalgae-based carbon capture technologies, it is therefore expedient to rely not only on widely used laboratory reference strains but also on regional strains naturally adapted to local conditions of irradiance, temperature and seasonality, since such adaptation can improve outdoor cultivation performance even though large-scale cultivation is ultimately conducted under at least partially controlled conditions (Cheregi et al., 2019; Subramanian and Sayre, 2022). Accordingly, the bioprospecting and isolation of new, locally adapted microalgal strains with strong carbon-sequestering potential remain an important research direction (Lee et al., 2022).

In line with this approach, the Institute of Biotechnology, Ecology and Nature Management of Kazan Federal University has conducted long-term isolation and characterization of microalgal strains inhabiting the temperate climate zone of central Russia, resulting in a substantial museum collection of efficient carbon-sequestering isolates. The next stage of this work requires selecting among the sequestrator strains obtained those that combine high biomass productivity with tolerance to the toxicants that typically present in flue gas- and wastewater-based cultivation media, since the tolerance of microalgae to heavy metals and acidic gases vary considerably between, and even within, genera, and is therefore amenable to targeted laboratory screening and strain selection (Zhang et al., 2021; Abinandan et al., 2021; Bashir et al., 2021; Li et al., 2021).

The aim of the present study was to select the most tolerant strains to heavy metal (Pb and Cd) and SO_2/NO_x exposure among nine microalgal strains, which were isolated from various water bodies and surfaces in the Republic of Tatarstan in 2024.

2. Materials and methods

2.1. Isolation and origin of microalgal strains

The nine microalgal strains (isolates No. 1, 4, 6, 9, 10, 13, 14, 15, and 16) were obtained in 2024 from various freshwater bodies and solid surfaces within the Republic of Tatarstan, Russia (Table 1). Surface water was sampled in accordance with GOST 17.1.5.05-85; strains were isolated into monoculture on solid (2% agar) Tamiya medium by repeated plating and single-colony isolation, and decontaminated using the antibiotic/antifungal/fungicide protocol of Mustapa et al. (2016).

2.2. Cultivation conditions

Strains were screened on a wastewater-relevant nutrient medium prepared from the complex granular fertilizer «Fertika Universal» (5 g/L in distilled water; composition: N 12%, P_2O_5 8%, K_2O 14%, MgO 2%, S 8%, B 0.1%, Cu 0.1%, Fe 0.1%, Mn 0.2%, Mo 0.01%, and Zn 0.1%), reflecting the cultivation-parameter rationale of Singh et al. (2019), under illumination from Solar LED Light S04 fixtures (5000 lux, 16:8 h photoperiod) in a temperature-controlled climate chamber (25 °C).

2.3. Heavy metal (Pb and Cd) and SO_2/NO_x tolerance assay

Pb and Cd tolerance was determined as EC_{50} values using the stock-solution/dilution-series, OD-based growth-inhibition approach in Li et al. (2021). Strains were exposed for 10 days (conditions as in Section 2.2) to a concentration series of PbCl2 or CdCl2 (0.5, 5, 10, 20, 50, 75, 100, 125, 150, 175, and 200 mg/L in «Fertika» medium, plus a metal-free control; additional intermediate/extended dilutions were prepared where this series did not capture ~50% inhibition). Growth inhibition was calculated from OD620 (721NVIS spectrophotometer) relative to the control, and EC_{50} was obtained by non-linear regression as described by Li et al. (2021).

Table 1. Origin of the nine microalgal isolates analyzed in this study

Isolate No.	Taxonomic assignment	Sampling site	Coordinates (lat., long.)
1	*Chlamydomonas* Ehrenberg, 1833 sp.	Lake Shankhai, Kazan, Republic of Tatarstan	55.687040, 49.075503
4	*Chlorococcum* Meneghini, 1842 sp.	Lake in Pobedy Park, Kazan, Republic of Tatarstan	55.830979, 49.109349
6	*Edaphochlamys debaryana* (Goroschankin) Pröschold et Darienko, 2018	Circulation channel (part of the cooling-water discharge system of a thermal power plant)	55.753878, 49.130386
9	*Chlamydomonas* Ehrenberg, 1833 sp.	Lake Marino, Kazan, Republic of Tatarstan	55.832808, 49.103063
10	*Chlorella* Beijerinck, 1890 sp.	Kazanka River, Gavrilov St., Kazan, Republic of Tatarstan	55.833304, 49.166199
13	*Chlamydomonas moewusii* Gerloff, 1940	Volga River, river port area, Kazan, Republic of Tatarstan	55.776893, 49.095229
14	*Chlorella vulgaris* Beijerinck, 1890	Lake Uritskogo, Kazan, Republic of Tatarstan	55.837827, 49.066470
15	*Spongiosarcinopsis* Temraleeva et al., 2018 sp.	Lake Nizhny Kaban, Kazan, Republic of Tatarstan	55.777503, 49.123895
16	*Chlamydomonas* Ehrenberg, 1833 sp.	Scraping from the inner wall of an iron barrel containing standing artesian water	not recorded

Tolerance to SO_2 and NO_x was assessed by continuous gas sparging of pre-cultivated strains (Section 2.2), following the methods of Lee et al. (2002) for SO_2 (0–150 ppm, as used for *Chlorella* sp.) and Radmann et al. (2011) for NO_x (30–100 ppm), with CO_2 as the carbon source and an air-only treatment as control. After 10 days, growth inhibition (OD620; 721NVIS spectrophotometer) and EC_{50} were determined as in Section 2.3.

2.4. Determination of redox potential (EMF), pH, and color of water

Redox potential (EMF) and pH of the culture medium were measured potentiometrically with an ANION-410 multi-parameter ion analyzer (Infraspak-Analit, Russia), following ISO 10523:2008 (pH) and ASTM D1498 (redox potential/ORP), with routine calibration against standard buffers and Zobell's solution, respectively.

Color of water was determined by the spectral absorption coefficient (SAC) method of DIN EN ISO 7887:2011, from absorbance measured at 436, 525 and 620 nm (1 cm cuvettes; distilled-water blank) as $SAC(\lambda)\ [m^{-1}] = 2.303 \times A(\lambda) / d$ ($d = 0.01$ m).

2.5. Molecular identification of strains

Strains were identified by Sanger sequencing of amplified marker regions (BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit; capillary electrophoresis on a Nanofor-05 system), following standard microalgal barcoding procedures (cf. Khaw et al., 2020), with taxonomic assignment via NCBI BLAST and MEGA X. Genomic DNA was extracted with the FastDNA Spin Kit for Soil (MP Biomedicals) and quantified on a Qubit 3.0 fluorometer.

2.6. Statistical analysis

All experiments were performed in at least three independent replicates. Mean values, standard deviations, and standard errors were calculated from the replicate measurements. Differences between treatments and controls were assessed using the Mann–Whitney U test (Happ et al., 2019).

3. Results

3.1. Characteristics of sampling sites: redox potential (EMF), pH, and color of water

The nine sampling sites, from which the microalgal isolates were obtained (Table 1), ranged in freshwater habitats within the Republic of Tatarstan, including two rivers (Volga and Kazanka), five lakes (Shankhai, Marino, Uritskogo, Nizhny Kaban, and the lake in Pobedy Park), an industrial circulation channel forming part of a thermal power plant cooling-water discharge system, and standing artesian water accumulated in an iron barrel. Fig. 1(a-c) shows the redox potential (EMF), pH, and color of the water at each site.

Redox potential varied widely among the sampling sites, from 27.1 mV in the enclosed barrel sample to 1518 mV in Lake Nizhny Kaban (Fig. 1a), reflecting the contrast between the stagnant, oxygen-limited conditions of the closed container and the well-aerated, oxidizing conditions of the open lake. Most natural water bodies (lakes and rivers) showed EMF values above 700 mV, except for the Volga River site (317.5 mV). pH values across all sites ranged from 6.417 (barrel) to 7.9765 (Pobedy Park lake), i.e., from near-neutral to slightly alkaline (Fig. 1b), consistent with typical values for temperate freshwater bodies in the region.

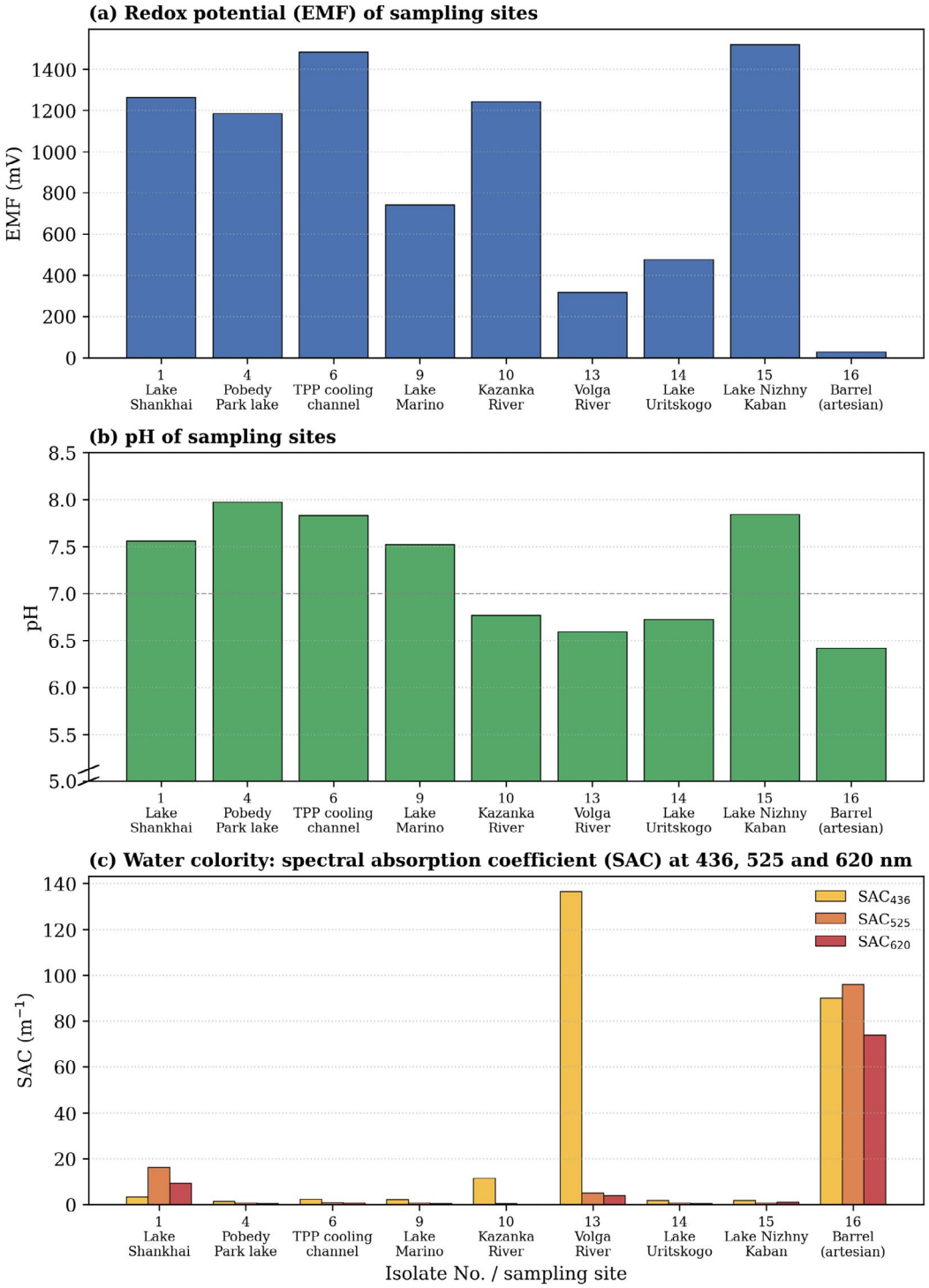


Fig.1. Characteristics of the sampling sites for the nine microalgal isolates: (a) redox potential (EMF, mV); (b) pH; (c) color of water, expressed as the spectral absorption coefficient (SAC, m-1) at 436, 525 and 620 nm (DIN EN ISO 7887:2011).

Color of water, expressed as the spectral absorption coefficient (SAC, $m-1$) at 436, 525, and 620 nm (Fig. 1c), was low (SAC $\leq$ 16 $m-1$ at all three wavelengths) at six of the nine sites (isolates 4, 6, 9, 10, 14, and 15), indicating a low content of colored dissolved organic matter. Two sites showed markedly elevated SAC values: the Volga River sample (SAC436 = 136.3 $m-1$, with lower values at 525 and 620 nm: 5.1 and 3.9 $m-1$, respectively) and the barrel sample (SAC436 = 90.1, SAC525 = 96.0, SAC620 = 73.9 $m-1$), the latter showing elevated absorption across the entire measured spectral range. The Shankhai lake sample (isolate 1) showed a moderate, comparatively uniform SAC (3.5-16.1 $m-1$). These results are consistent with a higher content of suspended and/or dissolved (including colored) matter in a large lotic system (the Volga River) and in stagnant, long-standing water in a closed metal container, respectively; the near-equal SAC across all three wavelengths for the barrel sample, in contrast to the strongly wavelength-dependent SAC of the Volga sample, further suggests a qualitatively different (less selectively yellow-brown) colored matter composition in the former.

3.2. Tolerance of microalgal isolates to Cd and Pb

Fig. 2 shows EC_{50} values for Cd and Pb, determined for each of the nine isolates, following the approach of Li et al. (2021) (Section 2.3). Tolerance to both metals varied considerably among isolates. For Pb, EC_{50} values ranged from 31.1 mg/L (isolate 1, *Chlamydomonas* sp.) to 238.5 mg/L (isolate 14, *Chlorella vulgaris*), an approximately 7.7-fold range. For Cd, EC_{50} values ranged from 8.3 mg/L (isolate 6, *Edaphochlamys debaryana*) to 176.3 mg/L (isolate 4, *Chlorococcum* sp.), an approximately 21-fold range.

Isolate 14 (*Chlorella vulgaris*) combined the highest Pb EC_{50} with a comparatively high Cd EC_{50} (129.7 mg/L), making it the most Pb/Cd-tolerant isolate overall. Isolate 4 (*Chlorococcum* sp.) showed the highest Cd EC_{50} (176.3 mg/L) together with a comparatively high Pb EC_{50} (113.7 mg/L). In contrast, isolate 6 (*Edaphochlamys debaryana*) and isolate 13 (*Chlamydomonas moewusii*) showed among the lowest EC50 values for both metals (Cd: 8.3 and 17.5 mg/L; Pb: 56.2 and 34.1 mg/L, respectively), indicating comparatively high sensitivity. For all isolates, Pb EC_{50} exceeded the corresponding Cd EC_{50}, consistent with the generally lower toxicity of Pb relative to Cd commonly reported for green microalgae.

3.3. Sensitivity to sulfur dioxide and nitrogen oxides

Sensitivity of the nine isolates to SO_2 and NO_x was assessed at fixed test concentrations selected within the ranges used by Lee et al. (2002) for *Chlorella* sp. KR-1 (SO_2, 0-150 ppm) and by Radmann et al. (2011) for SO_x/NO_x-resistant microalgae (NO_x, 30-100 ppm): 50 and 100 ppm NO_x, 50 ppm SO_2, and 100 ppm NO_2. As in these reference studies, our isolates were classified, based on growth relative to the gas-free control (Mann-Whitney U test), as non-toxic (nt, no statistically significant growth inhibition) or toxic (t, statistically significant inhibition) at each test concentration (Table 2).

At the lower test concentrations–50 ppm NO_x and 50 ppm SO_2–all nine isolates were classified as non-toxic, indicating a broad general tolerance to both pollutants at these levels, comparable to the tolerance reported for *Chlorella* sp. KR-1 at low-to-moderate SO_2 concentrations (Lee et al., 2002) and for SO_x/NO_x-resistant strains at concentrations ≤ 60 ppm SO_x (Radmann et al., 2011).

Higher test concentrations exhibited isolate-specific sensitivity. At 100 ppm NO_x, three isolates–6 (*Edaphochlamys debaryana*), 13 (*Chlamydomonas moewusii*), and 15 (*Spongiosarcinopsis* sp.)–showed statistically significant growth inhibition (t), while the remaining six isolates remained non-toxic, placing the sensitivity threshold of these three isolates within the 30-100 ppm NO_x range described by Radmann et al. (2011). At 100 ppm NO_2, five isolates (1, 4, 9, 13, and 15) were classified as toxic, whereas four isolates (6, 10, 14, and 16) remained non-toxic. Isolates 10 (*Chlorella* sp.) and 14 (*Chlorella vulgaris*) were non-toxic at every test concentration, consistent with the comparatively high SO_x/NO_x tolerance previously reported for *Chlorella* species (Lee et al., 2002; Radmann et al., 2011); isolates 13 and 15 were the most broadly sensitive, showing toxicity at both elevated NO_x and NO_2 concentrations.

4. Discussion

The Pb EC_{50} values obtained in this study (31.1-238.5 mg/L; Fig. 2) were, for most isolates, higher than the values reported in the literature for the same or closely related taxa. For *Chlorella vulgaris* (isolate 14), the Pb EC_{50} of 238.5 mg/L exceeded the 48.4-73.2 mg/L range reported for this species (Expósito et al., 2021) by a factor of 3.3-4.9, and the Cd EC_{50} of 129.7 mg/L exceeded the 0.9-7.5 mg/L range reported for *C. vulgaris* (Hussain et al., 2021; Expósito et al., 2021) by more than an order of magnitude. A similar pattern was observed for isolate 10 (*Chlorella* sp.: Pb EC_{50} = 137.3 mg/L; Cd EC_{50} = 101.7 mg/L). This degree of divergence from published EC_{50} values for the genus *Chlorella* suggests either an unusually high intrinsic tol-

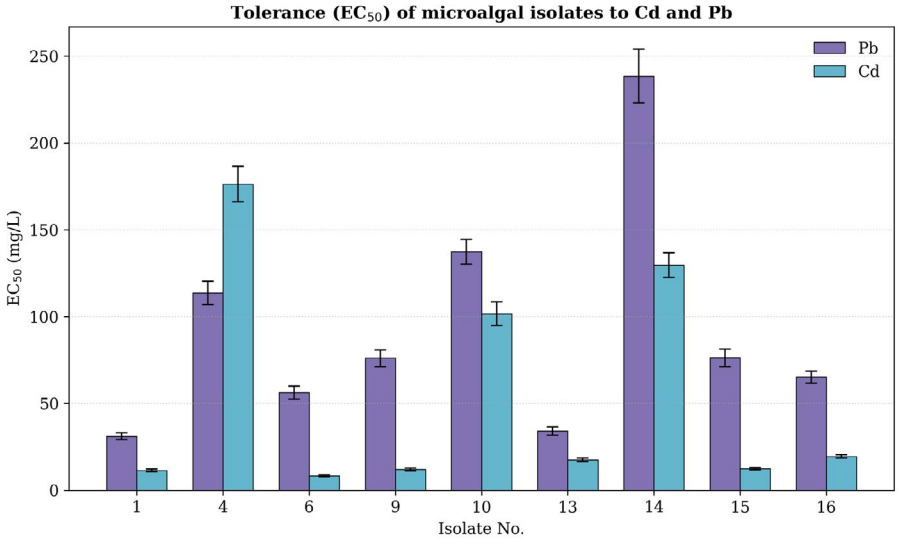


Fig.2. EC_{50} values (mg/L) for Pb and Cd for the nine microalgal isolates. Error bars represent the standard error of the mean (SE, ≈5-7% of the EC_{50} value).

Table 2. Sensitivity of the nine microalgal isolates to SO_2 and NO_x (nt–non-toxic, no significant growth inhibition relative to the gas-free control; t–toxic, statistically significant growth inhibition, Mann-Whitney U test).

Isolate No.	Taxonomic assignment	50 ppm NO_x	100 ppm NO_x	50 ppm SO_2	100 ppm NO_2
1	*Chlamydomonas sp.*	nt	nt	nt	t
4	*Chlorococcum sp.*	nt	nt	nt	t
6	*Edaphochlamys debaryana*	nt	t	nt	nt
9	*Chlamydomonas sp.*	nt	nt	nt	t
10	*Chlorella sp.*	nt	nt	nt	nt
13	*Chlamydomonas moewusii*	nt	t	nt	t
14	*Chlorella vulgaris*	nt	nt	nt	nt
15	*Spongiosarcinopsis sp.*	nt	t	nt	t
16	*Chlamydomonas sp.*	nt	nt	nt	nt

erance of these two isolates, or the influence of experimental factors (medium composition, pH, or exposure duration) not fully comparable between studies, and should be treated with caution pending independent confirmation.

For the *Chlamydomonas* group (isolates 1, 9, 16, and *C. moewusii*, isolate 13), agreement with literature EC_{50} values for the reference species, *C. reinhardtii*, (Pb: 19.99-29.48 mg/L; Cd: 12.48 mg/L; Li et al., 2021) was considerably closer. Cd EC_{50} values for isolates 1 and 9 (11.41 and 12 mg/L, respectively) were nearly identical to the literature value for *C. reinhardtii*, while Pb EC_{50} values for the same isolates (31.1 and 76.1 mg/L) bracketed or moderately exceeded it. Isolate 13 (*C. moewusii*) showed Pb and Cd EC_{50} values (34.1 and 17.5 mg/L) reasonably close to the *C. reinhardtii* benchmark. Isolate 6 (*Edaphochlamys debaryana*), for which no species-specific literature exists, showed a Cd EC_{50} (8.3 mg/L) close to, and a Pb EC_{50} (56.2 mg/L) roughly twice, the *C. reinhardtii* benchmark used as the nearest phylogenetic proxy.

No quantitative EC_{50} data are available in the literature for *Chlorococcum* (isolate 4) or *Spongiosarcinopsis* (isolate 15). The only relevant published information for *Chlorococcum* is the qualitative observation that *Chlorococcum dorsiventrale* tolerates Cd, Cr(VI), and Pb exposure without loss of viability over 14 days (Hmani et al., 2024), which is at least directionally consistent with the comparatively high Pb and Cd EC_{50} values found here for isolate 4 (113.7 and 176.3 mg/L, respectively–the highest Cd EC_{50} among all nine isolates).

Individual examination of EC_{50} values revealed that isolate 14 (*Chlorella vulgaris*, 238.5 mg/L) was the most Pb-tolerant, and isolate 4 (*Chlorococcum* sp., 176.3 mg/L) was the most Cd-tolerant.

The finding that all nine isolates were non-toxic (nt) at 50 ppm NO_x and 50 ppm SO_2 is consistent with the tolerance of SO_x/NO_x-resistant *Chlorella vulgaris* to $SO_x \leq$ 60 ppm and $NO_x \leq$ 100 ppm reported by Radmann et al. (2011), and with the moderate ($\approx$25%) growth inhibition reported for *Chlorella* sp. KR-1 at a comparable SO_2 concentration (60 ppm) by Lee et al. (2002). In other words, growth was reduced but not abolished at these concentrations, even in the more sensitive strains of the present study, so that none reached the significance threshold used to classify a strain as toxic (t).

At the higher NO_x (100 ppm) and NO_2 (100 ppm) concentrations, the emergence of toxicity in a subset of isolates (6, 13, and 15 at 100 ppm NO_x; 1, 4, 9, 13, and 15 at 100 ppm NO_2) falls within the range, over which Radmann et al. (2011) observed a transition from tolerance to inhibition (30-100 ppm NO_x), and parallels the concentration-dependent decline in growth rate of *Chlorella* sp. KR-1 with increasing SO_2 reported by Lee et al. (2002). Isolates 10 (*Chlorella* sp.), 14 (*Chlorella vulgaris*), and 16 (*Chlamydomonas* sp.) remained non-toxic across all four test conditions. For the two *Chlorella* isolates this is consistent with the comparatively high SO_x/NO_x tolerance reported for this genus in both reference studies, whereas the equally complete tolerance of isolate 16 (*Chlamydomonas* sp.) is not directly supported by, but also does not contradict, the literature, since neither Lee et al. (2002) nor Radmann et al. (2011) examined *Chlamydomonas* species. Taken together, isolates 10, 14, and 16 were the most SO_x/NO_x-tolerant strains, i.e. co-equal in gas tolerance.

To identify the isolate that combines the highest overall tolerance to heavy metals and acidic gases, a point-scoring procedure was applied. For each metal (Pb and Cd), the nine isolates were ranked by EC_{50} value and assigned an integer score from 1 (lowest EC_{50}, i.e. the most sensitive/least tolerant isolate) to 9 (highest EC_{50}, the most tolerant isolate), with no ties. For each of the four gas exposure conditions (50 ppm NO_x, 100 ppm NO_x, 50 ppm SO_2, and 100 ppm NO_2), an isolate scored 4.5 points if classified as non-toxic (nt) and 1 point if classified as toxic (t) (Table 2). The total score for each isolate was calculated as the sum of its Pb score, Cd score, and the four gas scores (maximum attainable total $= 9+9+4\times4.5=36$). The results are summarized in Table 3.

Isolate 14 (*Chlorella vulgaris*) obtained the highest total score (35.0 out of a theoretical maximum of 36), combining the highest Pb tolerance rank (9), a near-maximum Cd tolerance rank (8) and complete tolerance (nt) across all four gas exposure conditions. Isolate 10 (*Chlorella* sp.) ranked second (33.0), also with complete gas tolerance but slightly lower Pb and Cd ranks. Isolate 4 (*Chlorococcum* sp.) combined the single highest Cd tolerance rank (9) with a high Pb rank (7), but its total score (30.5) was reduced by toxicity at 100 ppm NO_2. On this basis, isolate 14 (*Chlorella vulgaris*) was identified as the best-performing strain

Table 3. Point-scoring assessment of the tolerance of the nine microalgal isolates to Pb, Cd, SO_2, and NO_x (Pb and Cd: 1 = most sensitive, 9 = most tolerant; gas conditions: 4.5 = non-toxic (nt), 1 = toxic (t)), ranked by total score.

Isolate No.	Taxonomic assignment	Pb score	Cd score	50 ppm NO_x	100 ppm NO_x	50 ppm SO_2	100 ppm NO_2	Total score
14	*Chlorella vulgaris*	9	8	4.5	4.5	4.5	4.5	**35.0**
10	*Chlorella sp.*	8	7	4.5	4.5	4.5	4.5	**33.0**
4	*Chlorococcum sp.*	7	9	4.5	4.5	4.5	1	**30.5**
16	*Chlamydomonas sp.*	4	6	4.5	4.5	4.5	4.5	**28.0**
9	*Chlamydomonas sp.*	5	3	4.5	4.5	4.5	1	**22.5**
15	*Spongiosarcinopsis sp.*	6	4	4.5	1	4.5	1	**21.0**
6	*Edaphochlamys debaryana*	3	1	4.5	1	4.5	4.5	**18.5**
13	*Chlamydomonas moewusii*	2	5	4.5	1	4.5	1	**18.0**
1	*Chlamydomonas sp.*	1	2	4.5	4.5	4.5	1	**17.5**

overall with respect to combined tolerance to Pb, Cd, SO_2, and NO_x, and is recommended as the primary candidate for further evaluation as a carbon-sequestering strain intended for cultivation on flue gas- and wastewater-derived nutrients under the conditions examined in this study.

5. Conclusions

Nine regional microalgal isolates from the Republic of Tatarstan showed wide variation in tolerance to Pb, Cd, SO_2, and NO_x, with EC_{50} values for Pb and Cd spanning almost an order of magnitude and, for most isolates, exceeding literature values reported for the same or related taxa, although this divergence should be verified by independent bioassays. All isolates tolerated the lowest test concentrations of SO_2 and NO_x, whereas isolate-specific sensitivity emerged at higher concentrations, particularly among isolates of *Chlamydomonas moewusii*, *Edaphochlamys debaryana*, and *Spongiosarcinopsis* sp.

A combined point-scoring assessment identified *Chlorella vulgaris* (isolate 14) as the strain with the highest overall tolerance to the toxicants examined, closely followed by *Chlorella* sp. (isolate 10). Both outperformed the remaining isolates, including two other *Chlamydomonas*-affiliated strains that showed complete gas tolerance but lower metal tolerance. These results support *Chlorella vulgaris* as the primary candidate for further development as a carbon-sequestering strain intended for cultivation on industrial flue gas and partially treated wastewater under the conditions of the Republic of Tatarstan. Future work should verify the comparatively high metal EC_{50} values against independent bioassays, extend gas tolerance testing to a wider concentration range and longer exposure duration, and evaluate the biomass productivity and CO_2 fixation capacity of the selected strain under pilot-scale, flue gas- and wastewater-fed cultivation conditions.

Acknowledgements

This work was funded by the subsidy allocated to Kazan Federal University for the state assignment in the sphere of scientific activities, project No. FZSM-2024-0004.

Conflict of Interest

The authors declare no conflicts of interest.

References

Abinandan S., Venkateswarlu K., Megharaj M. 2021. Phenotypic changes in microalgae at acidic pH mediate their tolerance to higher concentrations of transition metals. Current Research in Microbial Sciences 2: 100081. DOI: 10.1016/j.crmicr.2021.100081

Bashir K.M.I., Lee H.-J., Mansoor S. et al. 2021. The effect of chromium on photosynthesis and lipid accumulation in two chlorophyte microalgae. Energies 14: 2260. DOI: 10.3390/en14082260

Chen Y., Zhang F., Liu Y. et al. 2021. Study on the removal efficiency of heavy metals in flue gas of small sintering machines. Advances in Transdisciplinary Engineering 17: 580-587. DOI: 10.3233/ATDE210324

Cheregi O., Ekendahl S., Engelbrektsson J. et al. 2019. Microalgae biotechnology in Nordic countries - the potential of local strains. Physiologia Plantarum 166(1): 438-450. DOI: 10.1111/ppl.12950

DIN EN ISO 7887:2011. 2011. Water quality - Examination and determination of colour. German version EN ISO 7887:2011.

Expósito N., Carafa R., Kumar V. et al. 2021. Performance of *Chlorella vulgaris* exposed to heavy metal mixtures: linking measured endpoints and mechanisms. International Journal of Environmental Research and Public Health 18(3): 1037. DOI: 10.3390/ijerph18031037

Hmani R., Elleuch J., Elleuch F. et al. 2024. Molecular and enzymatic responses of *Chlorococcum dorsiventrale* to heavy metal exposure: implications for their removal. Applied Sciences 14: 8551. DOI: 10.3390/app14188551

Happ M., Bathke A.C., Brunner E. 2019. Optimal sample size planning for the Wilcoxon-Mann-Whitney-test. Statistics in Medicine 38(3): 363-375. DOI: 10.1002/sim.7983

Hussain F., Eom H., Toor U.A. et al. 2021. Rapid assessment of heavy metal-induced toxicity in water using micro-algal bioassay based on photosynthetic oxygen evolution. Environmental Engineering Research 26(6): 200391. DOI: 10.4491/eer.2020.391

IEA. 2025. CO_2 Emissions - Global Energy Review 2025. International Energy Agency, Paris.

Khaw Y.S., Khong N.M.H., Shaharuddin N.A. et al. 2020. A simple 18S rDNA approach for the identification of cultured eukaryotic microalgae with an emphasis on primers. Journal of Microbiological Methods 172: 105890. DOI: 10.1016/j.mimet.2020.105890

Lee J.-C., Joo J.-H., Chun B.H. et al. 2022. Isolation and screening of indigenous microalgae species for domestic and livestock wastewater treatment, biodiesel production, and carbon sequestration. Journal of Environmental Management 318: 115648. DOI: 10.1016/j.jenvman.2022.115648

Lee J.S., Kim D.K., Lee J.P. et al. 2002. Effects of SO_2 and NO on growth of *Chlorella* sp. KR-1. Bioresource Technology 82(1): 1-4. DOI: 10.1016/s0960-8524(01)00158-4

Li C., Zheng C., Fu H. et al. 2021. Contrasting detoxification mechanisms of *Chlamydomonas reinhardtii* under Cd and Pb stress. Chemosphere 274: 129771. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2021.129771

Mustapa M., Sallehudin N.J., Mohamed M. et al. 2016. Decontamination of *Chlorella* sp. culture using antibiotics and antifungal cocktail treatment. ARPN Journal of Engineering and Applied Sciences 11(1): 104-109.

Napan K., Teng L., Quinn J.C. et al. 2015. Impact of heavy metals from flue gas integration with microalgae production. Algal Research 8: 83-88. DOI: 10.1016/j.algal.2015.01.003

Oladimeji T.E., Oyedemi M., Emetere M.E. et al. 2024. Review on the impact of heavy metals from industrial wastewater effluent and removal technologies. Heliyon 10(21): e40370. DOI: 10.1016/j.heliyon.2024.e40370

Radmann E.M., Camerini F.V., Santos T.D. et al. 2011. Isolation and application of SO_x and NO_x resistant microalgae in biofixation of CO_2 from thermoelectricity plants. Energy Conversion and Management 52: 3132-3136. DOI: 10.1016/j.enconman.2011.04.021

Singh H.M., Kothari R., Gupta R. et al. 2019. Biofixation of flue gas from thermal power plants with algal biomass: overview and research perspectives. Journal of Environmental Management 245: 519-539. DOI: 10.1016/j.jenvman.2019.01.043

Subramanian S., Sayre R.T. 2022. The right stuff; realizing the potential for enhanced biomass production in microalgae. Frontiers in Energy Research 10: 979747. DOI: 10.3389/fenrg.2022.979747

Taştan B.E., Duygu E., Atakol O. et al. 2012. SO_2 and NO_2 tolerance of microalgae with the help of some growth stimulators. Energy Conversion and Management 64: 28-34. DOI: 10.1016/j.enconman.2012.05.019

Wang H., Zhang P. 2021. Emission characteristics of PM, heavy metals, and dioxins in flue gases from sintering machines with wet and semi-dry flue gas desulfurization systems. Environmental Science and Pollution Research 28(34): 46089-46099. DOI: 10.1007/s11356-020-11500-w

Wang Q., Wang X., Hong Y. et al. 2022. Microalgae cultivation in domestic wastewater for wastewater treatment and high value-added production: species selection and comparison. Biochemical Engineering Journal 185: 108493. DOI: 10.1016/j.bej.2022.108493

Zhang B., Wu J., Meng F. 2021. Adaptive laboratory evolution of microalgae: a review of the regulation of growth, stress resistance, metabolic processes, and biodegradation of pollutants. Frontiers in Microbiology 12: 737248. DOI: 10.3389/fmicb.2021.737248

Zhao B., Liu W., Wang X. et al. 2024. Emission characteristics and removal of heavy metals in flue gas: a case study in waste incineration and coal-fired power plants. Environmental Science and Pollution Research 31(6): 8883-8897. DOI: 10.1007/s11356-023-31678-z

Оригинальная статья
LIMNOLOGY FRESHWATER BIOLOGY

Толерантность региональных штаммов микроводорослей Республики Татарстан к тяжёлым металлам и кислым газам: значение для технологий улавливания углерода

Галиева Г.Ш.*, Хлебова Д.Л., Корнилова Д.Н., Галицкая П.Ю., Селивановская С.Ю.

Казанский федеральный университет, г. Казань, Республика Татарстан, 420008, Россия

АННОТАЦИЯ. Зелёные микроводоросли являются перспективными биологическими агентами для улавливания диоксида углерода из промышленных дымовых газов и для выращивания на частично очищенных сточных водах, однако такая стратегия культивирования с двумя источниками неизбежно подвергает культуры воздействию тяжёлых металлов и кислых газов - диоксида серы (SO_2) и оксидов азота (NO_x). В настоящей работе оценена толерантность девяти штаммов микроводорослей (*Chlamydomonas* sp., *Chlorococcum* sp., *Edaphochlamys debaryana*, *Chlorella* sp., *Chlamydomonas moewusii*, *Chlorella vulgaris* и *Spongiosarcinopsis* sp.), выделенных в 2024 г. из различных водоёмов и поверхностей Республики Татарстан, к свинцу (Pb), кадмию (Cd), SO_2 и NO_x, с целью отбора наиболее толерантного штамма для дальнейшей разработки в качестве кандидата-секвестратора углерода. Места отбора проб характеризовались по окислительно-восстановительному потенциалу (ЭДС, 27-1518 мВ), pH (6,4-8,0) и спектральному коэффициенту поглощения (цветность воды). Значения EC_{50}, определённые по кривым «доза-эффект», составили от 31,1 до 238,5 мг/л для Pb и от 8,3 до 176,3 мг/л для Cd, в большинстве случаев превышая литературные значения для тех же или родственных таксонов. Чувствительность к 50 ppm SO_2 и 50 ppm NO_x была низкой у всех изолятов, тогда как 100 ppm NO_x и 100 ppm NO_2 вызывали значимое ингибирование роста у трёх и пяти изолятов соответственно. Балльная оценка, объединяющая толерантность к Pb, Cd и газам, определила *Chlorella vulgaris* (изолят 14) как штамм с наилучшими показателями в целом (35 из максимальных 36 баллов), сочетающий наивысшую толерантность к Pb, близкую к максимальной толерантность к Cd и полную толерантность по всем протестированным газовым условиям. Полученные результаты позволяют рекомендовать *Chlorella vulgaris* в качестве основного кандидата среди исследованных изолятов для дальнейшей оценки в системах культивирования микроводорослей на основе дымовых газов и сточных вод.

Ключевые слова: микроводоросли, толерантность к тяжёлым металлам, EC_{50}, дымовые газы, токсичность SO_2/NO_x, секвестрация углерода

Для цитирования: Галиева Г.Ш., Хлебова Д.Л., Корнилова Д.Н., Галицкая П.Ю., Селивановская С.Ю. Толерантность региональных штаммов микроводорослей Республики Татарстан к тяжёлым металлам и кислым газам: значение для технологий улавливания углерода // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - С. 420-436. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-420

1. Введение

Смягчение последствий изменения климата стимулировало активное развитие технологий улавливания и хранения углерода - от геологического хранения CO_2 до методов биологической секвестрации. Среди последних зелёные микроводоросли (*Chlorophyta*) рассматриваются как особенно перспективные секвестраторы углерода, поскольку они накапливают биомассу значительно быстрее наземных растений: в оптимальных условиях микроводоросли преобразуют солнечную энергию в биомассу в несколько раз эффективнее наземных культур и лесов - благодаря отсутствию нефотосинтезирующей структурной ткани, возможности круглогодичного роста и высокоэффективным механизмам

*Автор для переписки. Адрес e-mail: goolnaz0708@yandex.ru (Г.Ш. Галиева)

Поступила: 02 июля 2026;
Принята после доработки: 28 июля 2026;
Опубликована online: 28 августа 2026

© Автор(ы) 2026. Эта работа распространяется под международной лицензией Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.

концентрирования CO_2 (Subramanian and Sayre, 2022). Эта более высокая продуктивность в сочетании со способностью микроводорослей усваивать CO_2 непосредственно из концентрированных потоков промышленных дымовых газов делает их привлекательными кандидатами для биологического улавливания углерода из промышленных выбросов, дополняя преимущественно физико-химические технологии улавливания углерода, используемые в настоящее время.

Масштаб проблемы, на решение которой направлены такие технологии, значителен. Мировые выбросы CO_2, связанные с энергетикой и промышленностью, достигли нового рекордного значения - 37,8 гигатонны в 2024 г., при этом основная доля этого объёма приходится на сжигание ископаемого топлива на тепловых электростанциях и других промышленных объектах (IEA, 2025). Перенаправление даже небольшой доли этих выбросов на производство биомассы микроводорослей, таким образом, представляет собой значимый вклад в смягчение последствий изменения климата при условии, что сам процесс культивирования остаётся технически осуществимым и экономически целесообразным.

Широко применяемой стратегией повышения экономической целесообразности улавливания углерода на основе микроводорослей является сочетание использования дымовых газов с применением частично очищенных (недоочищенных) коммунальных или промышленных сточных вод в качестве среды культивирования, поскольку сточные воды одновременно обеспечивают азот, фосфор и микроэлементы, необходимые для роста микроводорослей, снижая при этом затраты на традиционную третичную очистку сточных вод (Wang et al., 2022; Lee et al., 2022).

Однако такая стратегия культивирования с двумя источниками неизбежно подвергает культуры микроводорослей воздействию ряда токсикантов, присутствующих как в дымовых газах, так и в недоочищенных сточных водах, в первую очередь тяжёлых металлов и кислых газов - диоксида серы (SO_2) и оксидов азота (NO_x). Тяжёлые металлы, такие как хром, свинец, кадмий, мышьяк, никель и цинк, попадают в дымовые газы при сжигании угля и других видов твёрдого или жидкого топлива; документированные источники включают угольные тепловые электростанции, агломерационные и плавильные металлургические производства, а также сжигание твёрдых бытовых отходов (Chen et al., 2021; Wang and Zhang, 2021; Zhao et al., 2024), при этом их накопление в средах культивирования микроводорослей, снабжаемых дымовыми газами, было непосредственно количественно оценено в специализированных технологических исследованиях (Napan et al., 2015). Те же металлы, наряду с медью и ртутью, часто обнаруживаются в повышенных концентрациях в промышленных сточных водах гальванических, горнодобывающих, кожевенных, аккумуляторных и металлообрабатывающих производств (Oladimeji et al., 2024). Оксиды серы и азота, в свою очередь, образуются главным образом при сжигании ископаемого топлива на тепловых электростанциях и в выхлопах автотранспорта; их присутствие в дымовых газах является признанным ограничивающим фактором биофиксации CO_2 микроводорослями. Эти вещества, как было показано, могут либо ингибировать, либо, в зависимости от концентрации и продолжительности воздействия, стимулировать рост водорослей (Singh et al., 2019; Taştan et al., 2012).

Поэтому для практического развития технологий улавливания углерода на основе микроводорослей целесообразно опираться не только на широко используемые лабораторные референсные штаммы, но и на региональные штаммы, естественным образом адаптированные к местным условиям освещённости, температуры и сезонности. Такая адаптация может повышать эффективность культивирования в открытых условиях, даже несмотря на то, что крупномасштабное культивирование осуществляется, как минимум, в частично контролируемых условиях (Cheregi et al., 2019; Subramanian and Sayre, 2022). Соответственно, биопроспектинг и выделение новых, локально адаптированных штаммов микроводорослей с высоким потенциалом секвестрации углерода остаётся важным направлением исследований (Lee et al., 2022).

В (русле этого подхода) связи с этим Институт биотехнологии, экологии и природопользования Казанского федерального университета проводит долгосрочную работу по выделению и характеристике штаммов микроводорослей, обитающих в зоне умеренного климата центральной России. В результате была создана музейная коллекция эффективных штаммов-секвестраторов углерода. Следующий этап этой работы - отбор среди полученных штаммов-секвестраторов тех, которые сочетают высокую биомассопродуктивность с толерантностью к токсикантам, присутствующим в средах культивирования на основе дымовых газов и сточных вод. Поскольку толерантность микроводорослей к тяжёлым металлам и кислым газам, как известно, значительно варьирует между родами и даже внутри них, поэтому возможен направленый лабораторный скрининг и отбор штаммов (Zhang et al., 2021; Abinandan et al., 2021; Bashir et al., 2021; Li et al., 2021).

Целью настоящей работы являлся отбор среди девяти штаммов микроводорослей, выделенных из различных водоёмов и с различных поверхностей в Республике Татарстан в 2024 г., культур, наиболее толерантных к тяжёлым металлам (Pb, Cd) и кислым газам (SO_2/NO_x).

2. Материалы и методы

2.1. Изоляция штаммов микроводорослей

Девять штаммов микроводорослей, проанализированных в настоящем исследовании (изоляты № 1, 4, 6, 9, 10, 13, 14, 15 и 16), были получены в 2024 г. из различных пресноводных водоемов и поверхностей на территории Республики Татарстан, Россия (Таблица 1). Отбор проб поверхностных вод

проводили в соответствии с ГОСТ 17.1.5.05-85; штаммы выделяли в монокультуру на твердой (2% агар) среде Тамия путем многократного пересева и выделения отдельных колоний, деконтаминацию проводили по антибактериальной - фунгицидной схеме Mustapa et al. (2016).

2.2. Условия культивирования

Скрининг штаммов проводили на питательной среде, сопоставимой по условиям с богатыми биогенными элементами сточной воде - комплексном гранулированном удобрении «Фертика Универсал» (5 г удобрения растворяли в 1000 мл дистиллированной воды; состав: N 12%, P_2O_5 8%, K_2O 14%, MgO 2%, S 8%, B 0,1%, Cu 0,1%, Fe 0,1%, Mn 0,2%, Mo 0,01%, Zn 0,1%), следуя логике подбора параметров культивирования Singh et al. (2019), при освещении светодиодными прожекторами Solar LED Light S04 (5000 люкс, световой режим 16:8 ч) в термостатируемой климатической камере (25 °C).

2.3. Оценка толерантности к тяжелым металлам (Pb, Cd) и SO_2/NO_x

Толерантность к Pb и Cd определяли как значения EC50 с использованием подхода Li et al. (2021) (сток-раствор/серия разведений, ингибирование роста по OD). Штаммы экспонировали в течение 10 суток (условия - как в разделе 2.2) в серии концентраций $PbCl_2$ или $CdCl_2$ (0,5, 5, 10, 20, 50, 75, 100, 125, 150, 175 и 200 мг/л в среде Фертика, а также контроль без металла; при непопадании ~50%-ного ингибирования в эту серию готовили дополнительные промежуточные/расширенные разведения). Ингибирование роста рассчитывали по OD620 (спектрофотометр 721NVIS) относительно контроля, значения EC_{50} получали методом нелинейной регрессии, как описано Li et al. (2021).

Толерантность к SO_2 и NO_x оценивали методом непрерывного барботирования предварительно культивированных штаммов (раздел 2.2) по методикам Lee et al. (2002) для SO_2 (0–150 ppm, как для *Chlorella* sp.) и Radmann et al. (2011) для NO_x (30–100 ppm), с подачей CO_2 в качестве источника углерода и контролем без газа (только воздух). Через 10 суток ингибирование роста (OD620, спектрофотометр 721NVIS) и EC_{50} определяли как описано выше.

2.4. Определение окислительно-восстановительного потенциала (ЭДС), pH и цветности воды

ЭДС и pH культуральной среды измеряли потенциометрически с помощью иономера АНИОН-410 (Инфраспак-Аналит, Россия) в соответствии с ISO 10523:2008 (pH) и ASTM D1498 (ОВП), с рутинной калибровкой по стандартным буферным растворам и раствору Зобелла соответственно.

Цветность воды определяли методом спектрального коэффициента поглощения (SAC) по DIN EN ISO 7887:2011, по оптической плотности при 436, 525 и 620 нм (кюветы 1 см, бланк — дистиллированная вода) как $SAC(\lambda)\ [м^{-1}] = 2{,}303 \times A(\lambda) / d$ ($d = 0{,}01$ м).

2.5. Идентификация штаммов

Штаммы идентифицировали методом секвенирования по Сэнгеру ампликонов маркерных участков (набор BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit; капиллярный электрофорез на при-

Таблица 1. Происхождение девяти штаммов микроводорослей, проанализированных в настоящем исследовании

№ изолята	Таксономическая принадлежность	Место отбора	Координаты (широта, долгота)
1	*Chlamydomonas* Ehrenberg, 1833 sp.	озеро Шанхай, г. Казань, Республика Татарстан	55.687040, 49.075503
4	*Chlorococcum* Meneghini, 1842 sp.	озеро в парке Победы, г. Казань, Республика Татарстан	55.830979, 49.109349
6	*Edaphochlamys debaryana* (Goroschankin) Pröschold et Darienko, 2018	Циркуляционный канал (часть системы сброса охлаждающей воды ТЭЦ)	55.753878, 49.130386
9	*Chlamydomonas* Ehrenberg, 1833 sp.	озеро Марьино, г. Казань, Республика Татарстан	55.832808, 49.103063
10	*Chlorella* Beijerinck, 1890 sp.	река Казанка, ул. Гаврилова, г. Казань, Республика Татарстан	55.833304, 49.166199
13	*Chlamydomonas moewusii* Gerloff, 1940	река Волга, район речного порта, г. Казань, Республика Татарстан	55.776893, 49.095229
14	*Chlorella vulgaris* Beijerinck, 1890	озеро Урицкого, г. Казань, Республика Татарстан	55.837827, 49.066470
15	*Spongiosarcinopsis* Temraleeva et al., 2018 sp.	озеро Нижний Кабан, г. Казань, Республика Татарстан	55.777503, 49.123895
16	*Chlamydomonas* Ehrenberg, 1833 sp.	Соскоб с внутренней стенки железной бочки с отстоянной артезианской водой	данные отсутствуют

боре Нанофор-05), следуя стандартным процедурам штрихкодирования микроводорослей (ср. Khaw et al., 2020), с таксономическим отнесением по NCBI BLAST и MEGA X. Геномную ДНК выделяли набором FastDNA Spin Kit for Soil (MP Biomedicals) и определяли на флуориметре Qubit 3.0.

2.6. Статистическая обработка результатов

Все эксперименты проводили не менее чем в трёх независимых повторностях. Средние значения, стандартное отклонение и стандартную ошибку рассчитывали по данным повторностей. Различия между вариантами воздействия и контролем оценивали с помощью критерия Манна-Уитни (Happ et al., 2019).

3. Результаты

3.1. Характеристика точек отбора проб: окислительно-восстановительный потенциал (ЭДС), pH и цветность воды

Девять точек отбора проб, из которых были получены проанализированные в настоящем исследовании штаммы микроводорослей (Таблица 1), охватывали ряд пресноводных местообитаний на территории Республики Татарстан, включая две реки (Волга, Казанка), пять озёр (Шанхай, Марьино, Урицкого, Нижний Кабан и озеро в парке Победы), промышленный циркуляционный канал, являющийся частью системы сброса охлаждающей воды ТЭЦ, и стоячую артезианскую воду, накопившуюся в железной бочке. Окислительно-восстановительный потенциал (ЭДС), pH и цветность воды в каждой точке представлены на Рисунке 1(а-в).

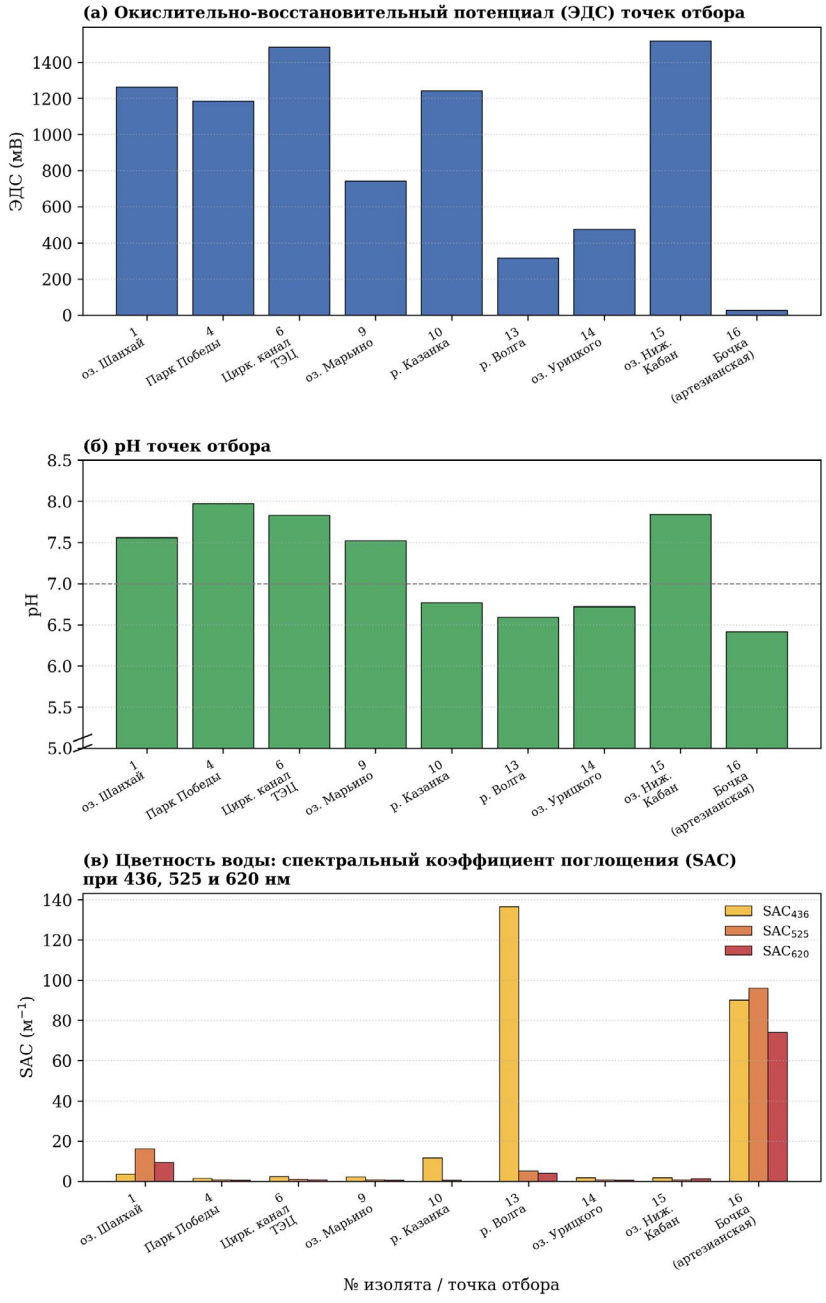


Рис.1. Характеристика точек отбора проб для девяти штаммов микроводорослей: (а) окислительно-восстановительный потенциал (ЭДС, мВ); (б) pH; (в) цветность воды, выраженная как спектральный коэффициент поглощения (SAC, м-1) при 436, 525 и 620 нм (DIN EN ISO 7887:2011).

Окислительно-восстановительный потенциал широко варьировал между точками отбора - от 27,1 мВ в пробе из закрытой бочки до 1518 мВ в озере Нижний Кабан (Рис. 1а), что отражает контраст между застойными, лимитированными по кислороду условиями закрытой ёмкости и хорошо аэрируемыми, окислительными условиями открытого озера. Большинство природных водоёмов (озёра и реки) показали значения ЭДС выше 700 мВ, за заметным исключением точки на реке Волге (317,5 мВ). Значения pH во всех точках варьировали от 6,417 (бочка) до 7,9765 (озеро в парке Победы), т. е. от близких к нейтральным до слабощелочных (Рис. 1б), что соответствует типичным значениям для пресноводных водоёмов умеренной климатической зоны региона.

Цветность воды, выраженная как спектральный коэффициент поглощения (SAC, $м^{-1}$) при 436, 525 и 620 нм (Рис. 1в), была низкой (SAC ≤ 16 $м^{-1}$ на всех трёх длинах волн) в шести из девяти точек (изоляты 4, 6, 9, 10, 14 и 15), что указывает на низкое содержание окрашенного растворённого органического вещества. В двух точках отмечены заметно повышенные значения SAC: проба из реки Волги (SAC436 = 136,3 $м^{-1}$, при более низких значениях на 525 и 620 нм - 5,1 и 3,9 $м^{-1}$ соответственно) и проба из бочки (SAC436 = 90,1, SAC525 = 96,0, SAC620 = 73,9 $м^{-1}$), причём последняя демонстрировала повышенное поглощение во всём измеренном спектральном диапазоне. Проба из озера Шанхай (изолят 1) показала умеренный, сравнительно равномерный SAC (3,5-16,1 $м^{-1}$). Эти результаты согласуются с более высоким содержанием взвешенного и/или растворённого (в том числе окрашенного) вещества в крупной лотической системе (река Волга) и в застойной, долго стоявшей воде в закрытой металлической ёмкости соответственно; практически одинаковый SAC на всех трёх длинах волн для пробы из бочки, в отличие от сильно зависящего от длины волны SAC пробы из Волги, дополнительно указывает на качественно различный состав окрашенного растворённого органического вещества. В первом случае - соединения с широкополосным поглощением без явного максимума в синей области, во втором - гумусоподобные вещества с характерным максимумом поглощения в коротковолновом диапазоне.

3.2. Толерантность изолятов микроводорослей к Cd и Pb

Значения EC_{50} для Cd и Pb, определённые для каждого из девяти изолятов, представлены на Рисунке 2. Толерантность к обоим металлам значительно варьировала между изолятами. Для Pb значения EC_{50} варьировали от 31,1 мг/л (изолят 1, *Chlamydomonas* sp.) до 238,5 мг/л (изолят 14, *Chlorella vulgaris*) - приблизительно 7,7-кратный диапазон. Для Cd значения EC_{50} варьировали от 8,3 мг/л (изолят 6, *Edaphochlamys debaryana*) до 176,3 мг/л (изолят 4, *Chlorococcum* sp.) - приблизительно 21-кратный диапазон.

Изолят 14 (*Chlorella vulgaris*) сочетал наивысшее значение EC_{50} по Pb со сравнительно высоким значением EC_{50} по Cd (129,7 мг/л), что делает его наиболее толерантным к Pb/Cd изолятом в целом. Изолят 4 (*Chlorococcum* sp.) показал наивысшее значение EC_{50} по Cd (176,3 мг/л) наряду со сравнительно высоким значением EC_{50} по Pb (113,7 мг/л). Напротив, изолят 6 (*Edaphochlamys debaryana*) и изолят 13 (*Chlamydomonas moewusii*) показали одни из самых низких значений EC_{50} по обоим металлам (Cd: 8,3 и 17,5 мг/л; Pb: 56,2 и 34,1 мг/л соответственно), что указывает на сравнительно высокую их чувствительность. У всех изолятов EC_{50} по Pb превышало соответствующее значение EC_{50} по Cd, что согласуется с более низкой токсичностью Pb по сравнению с Cd, обычно описываемой для зелёных микроводорослей.

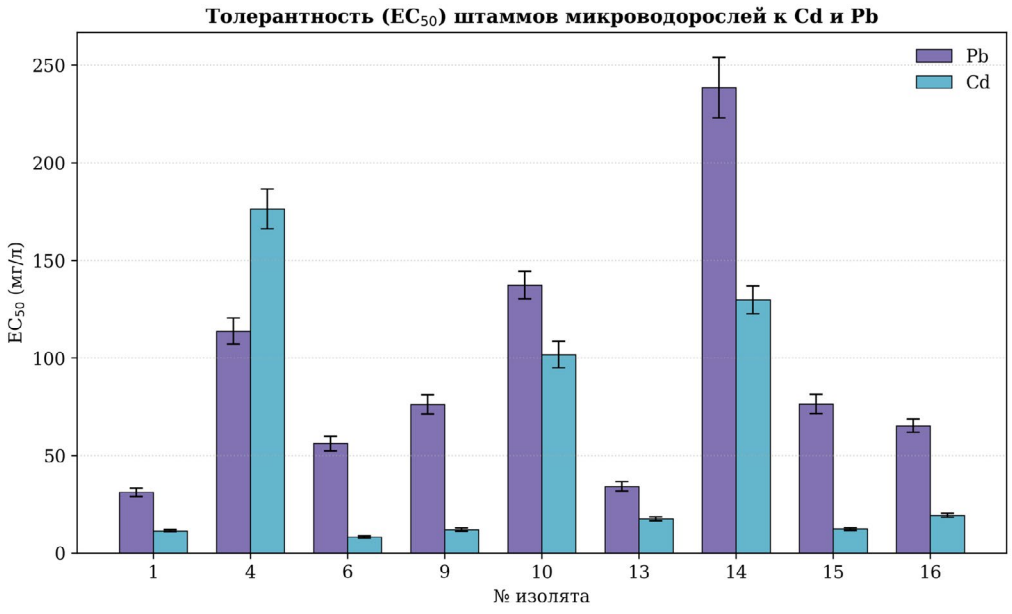


Рис.2. Значения EC_{50} (мг/л) для Pb и Cd для девяти штаммов микроводорослей. Планки погрешностей отражают стандартную ошибку среднего (SE, ≈5-7% от значения EC_{50}).

3.3. Чувствительность к диоксиду серы и оксидам азота

Чувствительность девяти изолятов к SO_2 и NO_x оценивали при испытательных концентрациях, выбранных в пределах диапазонов, использованных Lee et al. (2002) для *Chlorella* sp. KR-1 (SO_2, 0-150 ppm) и Radmann et al. (2011) для устойчивых к SO_x/NO_x микроводорослей (NO_x, 30-100 ppm): 50 и 100 ppm NO_x, 50 ppm SO_2 и 100 ppm NO_2. Как и в этих референсных исследованиях, изоляты классифицировали, на основании роста относительно контроля без газа (критерий Манна-Уитни), как нетоксичные (nt - отсутствие статистически значимого ингибирования роста) или токсичные (t - статистически значимое ингибирование) при каждой испытательной концентрации (Таблица 2).

При более низких испытательных концентрациях - 50 ppm NO_x и 50 ppm SO_2 - все девять изолятов были классифицированы как нетоксичные, что указывает на широкую общую толерантность к обоим поллютантам при этих уровнях, сопоставимую с толерантностью, описанной для *Chlorella* sp. KR-1 при низких и умеренных концентрациях SO_2 (Lee et al., 2002) и для устойчивых к SO_x/NO_x штаммов при концентрациях $\leq$60 ppm SO_x (Radmann et al., 2011).

Специфичная для изолятов чувствительность проявилась при более высоких испытательных концентрациях. При 100 ppm NO_x три изолята - 6 (*Edaphochlamys debaryana*), 13 (*Chlamydomonas moewusii*) и 15 (*Spongiosarcinopsis* sp.) - показали статистически значимое ингибирование роста (t), тогда как остальные шесть изолятов оставались нетоксичными, что помещает порог чувствительности этих трёх изолятов в диапазон 30-100 ppm NO_x, описанный Radmann et al. (2011). При 100 ppm NO_2 пять изолятов (1, 4, 9, 13 и 15) были классифицированы как токсичные, тогда как четыре изолята (6, 10, 14 и 16) оставались нетоксичными. Изоляты 10 (*Chlorella* sp.) и 14 (*Chlorella vulgaris*) были нетоксичными при всех испытательных концентрациях, что согласуется со сравнительно высокой толерантностью к SO_x/NO_x, ранее описанной для рода *Chlorella* (Lee et al., 2002; Radmann et al., 2011); изоляты 13 и 15 оказались наиболее широко чувствительными, показав токсичность как при повышенных концентрациях NO_x, так и NO_2.

4. Обсуждение

4.1. Сравнение толерантности к Pb и Cd с литературными данными

Значения EC_{50} по Pb, полученные в настоящем исследовании (31,1-238,5 мг/л; Рис. 2), у большинства изолятов оказались выше значений, описанных в литературе для тех же или близкородственных таксонов. Для *Chlorella vulgaris* (изолят 14) значение EC_{50} по Pb (238,5 мг/л) превысило диапазон 48,4-73,2 мг/л, описанный для этого вида (Expósito et al., 2021), в 3,3-4,9 раза, а значение EC_{50} по Cd (129,7 мг/л) превысило диапазон 0,9-7,5 мг/л, описанный для *C. vulgaris* (Hussain et al., 2021; Expósito et al., 2021), более чем на порядок. Схожая картина наблюдалась для изолята 10 (*Chlorella* sp.: EC_{50} по Pb = 137,3 мг/л, EC_{50} по Cd = 101,7 мг/л). Такая степень расхождения с опубликованными значениями EC_{50} для рода *Chlorella* указывает либо на необычно высокую собственную толерантность этих двух изолятов, либо на влияние экспериментальных факторов (состав среды, pH, продолжительность экспозиции), не полностью сопоставимых между исследованиями, и должна восприниматься с осторожностью до независимого подтверждения.

Для группы *Chlamydomonas* (изоляты 1, 9, 16 и *C. moewusii*, изолят 13) соответствие литературным значениям EC_{50} для референсного вида *C. reinhardtii* (Pb: 19,99-29,48 мг/л; Cd: 12,48 мг/л; Li et al., 2021) оказалось значительно более близким. Значения EC_{50} по Cd для изолятов 1 и 9 (11,41 и 12 мг/л соответственно) были практически идентичны литературному значению для *C. reinhardtii*, тогда как значения EC_{50} по Pb для тех же изолятов (31,1 и 76,1 мг/л) охватывали его или умеренно превышали. Изолят 13 (*C. moewusii*) показал значения EC_{50} по Pb и Cd (34,1 и 17,5 мг/л), достаточно близкие к ориентиру *C. reinhardtii*. Изолят 6 (*Edaphochlamys debaryana*), для которого видоспецифичная литература отсутствует, показал значение EC_{50} по Cd (8,3 мг/л), близкое к ориентиру *C. reinhardtii*, использованному как ближайший филогенетический аналог, и значение

Таблица 2. Чувствительность девяти штаммов микроводорослей к SO_2 и NO_x (nt - нетоксично, отсутствие значимого ингибирования роста относительно контроля без газа; t - токсично, статистически значимое ингибирование роста, критерий Манна-Уитни).

№ изолята	Таксономическая принадлежность	50 ppm NO_x	100 ppm NO_x	50 ppm SO_2	100 ppm NO_2
1	*Chlamydomonas sp.*	nt	nt	nt	t
4	*Chlorococcum sp.*	nt	nt	nt	t
6	*Edaphochlamys debaryana*	nt	t	nt	nt
9	*Chlamydomonas sp.*	nt	nt	nt	t
10	*Chlorella sp.*	nt	nt	nt	nt
13	*Chlamydomonas moewusii*	nt	t	nt	t
14	*Chlorella vulgaris*	nt	nt	nt	nt
15	*Spongiosarcinopsis sp.*	nt	t	nt	t
16	*Chlamydomonas sp.*	nt	nt	nt	nt

EC_{50} по Pb (56,2 мг/л), примерно вдвое превышающее этот ориентир.

Количественные данные EC_{50} в литературе отсутствуют для *Chlorococcum* (изолят 4) и *Spongiosarcinopsis* (изолят 15); единственная значимая опубликованная информация для *Chlorococcum* - качественное наблюдение о том, что *Chlorococcum dorsiventrale* переносит воздействие Cd, Cr(VI) и Pb без потери жизнеспособности в течение 14 суток (Hmani et al., 2024), что по крайней мере по направленности согласуется со сравнительно высокими значениями EC_{50} по Pb и Cd, обнаруженными здесь для изолята 4 (113,7 и 176,3 мг/л соответственно - наивысшее значение EC_{50} по Cd среди всех девяти изолятов). EC_{50} и рассматривать значения EC_{50} по отдельности, наиболее толерантным к Pb оказался изолят 14 (*Chlorella vulgaris*, 238,5 мг/л), а наиболее толерантным к Cd - изолят 4 (*Chlorococcum* sp., 176,3 мг/л).

4.2. Сравнение чувствительности к SO_2/NO_x с литературными данными

Тот факт, что все девять изолятов оказались нетоксичными (nt) при 50 ppm NO_x и 50 ppm SO_2, согласуется с толерантностью устойчивых к SO_x/NO_x штаммов *Chlorella vulgaris* к $SO_x \leq 60$ ppm и $NO_x \leq 100$ ppm, описанной Radmann et al. (2011), а также с умеренным ($\approx 25\%$) ингибированием роста, описанным Lee et al. (2002) для *Chlorella* sp. KR-1 при сопоставимой концентрации SO_2 (60 ppm). Результаты показали, что рост снижался, но не полностью подавлялся при этих концентрациях даже у более чувствительных штаммов настоящего исследования, вследствие чего ни один из них не достиг порога значимости, использованного для классификации штамма как токсичного (t).

При более высоких концентрациях NO_x (100 ppm) и NO_2 (100 ppm) появление токсичности у части изолятов (6, 13 и 15 при 100 ppm NO_x; 1, 4, 9, 13 и 15 при 100 ppm NO_2) попадает в диапазон, в котором Radmann et al. (2011) наблюдали переход от толерантности к ингибированию (30-100 ppm NO_x). Полученные результаты также согласуются с данными Lee et al. (2002), показавшими концентрационно-зависимое снижение скорости роста Chlorella sp. KR-1 при увеличении концентрации SO_2. Изоляты 10 (*Chlorella* sp.), 14 (*Chlorella vulgaris*) и 16 (*Chlamydomonas* sp.) оставались нетоксичными при всех четырёх испытательных условиях. Для двух изолятов *Chlorella* это согласуется со сравнительно высокой толерантностью к SO_x/NO_x, описанной для этого рода в обоих референсных исследованиях, тогда как столь же полная толерантность изолята 16 (*Chlamydomonas* sp.) прямо не подтверждается, но и не противоречит литературе, поскольку ни Lee et al. (2002), ни Radmann et al. (2011) не изучали виды *Chlamydomonas*. Таким образом, изоляты 10, 14 и 16 оказались наиболее толерантными к SO_x/NO_x штаммами, т. е. равнозначными по толерантности к газам.

4.3. Комплексная оценка толерантности и выбор наилучшего штамма

Для выбора изолята, сочетающего наивысшую общую толерантность к тяжёлым металлам и кислым газам, была применена балльная процедура оценки. Для каждого металла (Pb, Cd) девять изолятов были ранжированы по значению EC_{50}, что позволило получить целочисленный балл от 1 (наименьшее значение EC_{50}, т. е. наиболее чувствительный/наименее толерантный изолят) до 9 (наибольшее значение EC_{50}, наиболее толерантный изолят), без совпадений. Для каждого из четырёх условий газового воздействия (50 ppm NO_x, 100 ppm NO_x, 50 ppm SO_2, 100 ppm NO_2) изолят получал 4,5 балла при классификации как нетоксичный (nt) и 1 балл - как токсичный (t) (Таблица 2). Итоговый балл для каждого изолята рассчитывали, как сумму его баллов по Pb, Cd и четырёх баллов по газам (максимально достижимый итог = 9 + 9 + 4 × 4,5 = 36); результаты обобщены в Таблице 3.

Изолят 14 (*Chlorella vulgaris*) набрал наивысший итоговый балл (35,0 из теоретического максимума 36), сочетая наивысший ранг толерантности к Pb (9), близкий к максимальному ранг толерантности к Cd (8) и полную толерантность (nt) по всем четырём условиям газового воздействия. Изолят 10 (*Chlorella* sp.) занял второе место (33,0), также с полной толерантностью к газам, но несколько более низкими рангами по Pb и Cd. Изолят 4 (*Chlorococcum*

Таблица 3. Балльная оценка толерантности девяти штаммов микроводорослей к Pb, Cd, SO_2 и NO_x (Pb, Cd: 1 = наиболее чувствительный, 9 = наиболее толерантный; газовые условия: 4,5 = нетоксично (nt), 1 = токсично (t)), ранжированные по итоговому баллу.

№ изолята	Таксономическая принадлежность	Балл Pb	Балл Cd	50 ppm NO_x	100 ppm NO_x	50 ppm SO_2	100 ppm NO_2	Итоговый балл
14	*Chlorella vulgaris*	9	8	4.5	4.5	4.5	4.5	**35.0**
10	*Chlorella sp.*	8	7	4.5	4.5	4.5	4.5	**33.0**
4	*Chlorococcum sp.*	7	9	4.5	4.5	4.5	1	**30.5**
16	*Chlamydomonas sp.*	4	6	4.5	4.5	4.5	4.5	**28.0**
9	*Chlamydomonas sp.*	5	3	4.5	4.5	4.5	1	**22.5**
15	*Spongiosarcinopsis sp.*	6	4	4.5	1	4.5	1	**21.0**
6	*Edaphochlamys debaryana*	3	1	4.5	1	4.5	4.5	**18.5**
13	*Chlamydomonas moewusii*	2	5	4.5	1	4.5	1	**18.0**
1	*Chlamydomonas sp.*	1	2	4.5	4.5	4.5	1	**17.5**

sp.) сочетал единственный наивысший ранг толерантности к Cd (9) с высоким рангом по Pb (7), однако его итоговый балл (30,5) был снижен из-за токсичности при 100 ppm NO_2. На этом основании изолят 14 (*Chlorella vulgaris*) определён как штамм с наилучшими показателями в целом с точки зрения комплексной толерантности к Pb, Cd, SO_2 и NO_x, и рекомендован в качестве основного кандидата для дальнейшей оценки в качестве штамма-секвестратора углерода, предназначенного для культивирования на питательных веществах дымовых газов и сточных вод, в условиях, исследованных в настоящей работе.

5. Заключение

Девять региональных штаммов микроводорослей из Республики Татарстан показали широкую вариацию толерантности к Pb, Cd, SO_2 и NO_x: значения EC_{50} по Pb и Cd охватывали диапазон почти на порядок и у большинства изолятов превышали литературные значения, описанные для тех же или родственных таксонов, хотя это расхождение следует подтвердить независимыми биотестами. Все изоляты переносили наименьшие испытательные концентрации SO_2 и NO_x, тогда как специфичная для отдельных изолятов чувствительность проявлялась при более высоких концентрациях, в частности у штаммов *Chlamydomonas moewusii*, *Edaphochlamys debaryana* и *Spongiosarcinopsis* sp.

Комплексная балльная оценка определила *Chlorella vulgaris* (изолят 14) как штамм с наивысшей общей толерантностью к исследованным токсикантам, за которым с небольшим отрывом следует *Chlorella* sp. (изолят 10); оба превзошли остальные изоляты, включая два других штамма из рода *Chlamydomonas*, которые показали полную толерантность к газам, но более низкую толерантность к металлам. Эти результаты позволяют рекомендовать *Chlorella vulgaris* в качестве основного кандидата для дальнейшей разработки в качестве штамма-секвестратора углерода, предназначенного для культивирования на промышленных дымовых газах и частично очищенных сточных водах в условиях Республики Татарстан. Дальнейшая работа должна включать подтверждение сравнительно высоких значений EC_{50} по металлам независимыми биотестами, расширение тестирования газовой толерантности на более широкий диапазон концентраций и большую продолжительность экспозиции, а также оценку биомассопродуктивности и способности к фиксации CO_2 отобранного штамма в условиях пилотного культивирования на дымовых газах и сточных водах.

Благодарности

Работа выполнена за счёт средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету на выполнение государственного задания в сфере научной деятельности, проект № FZSM-2024-0004.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

Abinandan S., Venkateswarlu K., Megharaj M. 2021. Phenotypic changes in microalgae at acidic pH mediate their tolerance to higher concentrations of transition metals. Current Research in Microbial Sciences 2: 100081. DOI: 10.1016/j.crmicr.2021.100081

Bashir K.M.I., Lee H.-J., Mansoor S. et al. 2021. The effect of chromium on photosynthesis and lipid accumulation in two chlorophyte microalgae. Energies 14: 2260. DOI: 10.3390/en14082260

Chen Y., Zhang F., Liu Y. et al. 2021. Study on the removal efficiency of heavy metals in flue gas of small sintering machines. Advances in Transdisciplinary Engineering 17: 580-587. DOI: 10.3233/ATDE210324

Cheregi O., Ekendahl S., Engelbrektsson J. et al. 2019. Microalgae biotechnology in Nordic countries - the potential of local strains. Physiologia Plantarum 166(1): 438-450. DOI: 10.1111/ppl.12950

DIN EN ISO 7887:2011. Water quality - Examination and determination of colour. German version EN ISO 7887:2011.

Expósito N., Carafa R., Kumar V. et al. 2021. Performance of *Chlorella vulgaris* exposed to heavy metal mixtures: linking measured endpoints and mechanisms. International Journal of Environmental Research and Public Health 18(3): 1037. DOI: 10.3390/ijerph18031037

Hmani R., Elleuch J., Elleuch F. et al. 2024. Molecular and enzymatic responses of *Chlorococcum dorsiventrale* to heavy metal exposure: implications for their removal. Applied Sciences 14: 8551. DOI: 10.3390/app14188551

Happ M., Bathke A.C., Brunner E. 2019. Optimal sample size planning for the Wilcoxon-Mann-Whitney-test. Statistics in Medicine 38(3): 363-375. DOI: 10.1002/sim.7983

Hussain F., Eom H., Toor U.A. et al. 2021. Rapid assessment of heavy metal-induced toxicity in water using micro-algal bioassay based on photosynthetic oxygen evolution. Environmental Engineering Research 26(6): 200391. DOI: 10.4491/eer.2020.391

IEA. 2025. CO_2 Emissions - Global Energy Review 2025. International Energy Agency, Paris.

Khaw Y.S., Khong N.M.H., Shaharuddin N.A. et al. 2020. A simple 18S rDNA approach for the identification of cultured eukaryotic microalgae with an emphasis on primers. Journal of Microbiological Methods 172: 105890. DOI: 10.1016/j.mimet.2020.105890

Lee J.-C., Joo J.-H., Chun B.H. et al. 2022. Isolation and screening of indigenous microalgae species for domestic and livestock wastewater treatment, biodiesel production, and carbon sequestration. Journal of Environmental Management 318: 115648. DOI: 10.1016/j.jenvman.2022.115648

Lee J.S., Kim D.K., Lee J.P. et al. 2002. Effects of SO_2 and NO on growth of *Chlorella* sp. KR-1. Bioresource Technology 82(1): 1-4. DOI: 10.1016/s0960-8524(01)00158-4

Li C., Zheng C., Fu H. et al. 2021. Contrasting detoxification mechanisms of *Chlamydomonas reinhardtii* under Cd and Pb stress. Chemosphere 274: 129771. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2021.129771

Mustapa M., Sallehudin N.J., Mohamed M. et al. 2016. Decontamination of *Chlorella* sp. culture using antibiotics and antifungal cocktail treatment. ARPN Journal of Engineering and Applied Sciences 11(1): 104-109.

Napan K., Teng L., Quinn J.C. et al. 2015. Impact of heavy metals from flue gas integration with microalgae production. Algal Research 8: 83-88. DOI: 10.1016/j.algal.2015.01.003

Oladimeji T.E., Oyedemi M., Emetere M.E. et al. 2024. Review on the impact of heavy metals from industrial wastewater effluent and removal technologies. Heliyon 10(21): e40370. DOI: 10.1016/j.heliyon.2024.e40370

Radmann E.M., Camerini F.V., Santos T.D. et al. 2011. Isolation and application of SO_x and NO_x resistant microalgae in biofixation of CO_2 from thermoelectricity plants. Energy Conversion and Management 52: 3132-3136. DOI: 10.1016/j.enconman.2011.04.021

Singh H.M., Kothari R., Gupta R. et al. 2019. Biofixation of flue gas from thermal power plants with algal biomass: overview and research perspectives. Journal of Environmental Management 245: 519-539. DOI: 10.1016/j.jenvman.2019.01.043

Subramanian S., Sayre R.T. 2022. The right stuff; realizing the potential for enhanced biomass production in microalgae. Frontiers in Energy Research 10: 979747. DOI: 10.3389/fenrg.2022.979747

Taştan B.E., Duygu E., Atakol O. et al. 2012. SO_2 and NO_2 tolerance of microalgae with the help of some growth stimulators. Energy Conversion and Management 64: 28-34. DOI: 10.1016/j.enconman.2012.05.019

Wang H., Zhang P. 2021. Emission characteristics of PM, heavy metals, and dioxins in flue gases from sintering machines with wet and semi-dry flue gas desulfurization systems. Environmental Science and Pollution Research 28(34): 46089-46099. DOI: 10.1007/s11356-020-11500-w

Wang Q., Wang X., Hong Y. et al. 2022. Microalgae cultivation in domestic wastewater for wastewater treatment and high value-added production: species selection and comparison. Biochemical Engineering Journal 185: 108493. DOI: 10.1016/j.bej.2022.108493

Zhang B., Wu J., Meng F. 2021. Adaptive laboratory evolution of microalgae: a review of the regulation of growth, stress resistance, metabolic processes, and biodegradation of pollutants. Frontiers in Microbiology 12: 737248. DOI: 10.3389/fmicb.2021.737248

Zhao B., Liu W., Wang X. et al. 2024. Emission characteristics and removal of heavy metals in flue gas: a case study in waste incineration and coal-fired power plants. Environmental Science and Pollution Research 31(6): 8883-8897. DOI: 10.1007/s11356-023-31678-z

Original Article
LIMNOLOGY FRESHWATER BIOLOGY

Terrestrial phototrophic biofilms on artificial substrates: diversity of cyanobacteria and microalgae in a small urban town (Pushchino, Russia)

Redkina V.V.*, Krivina E.S., Temraleeva A.D.

G.K. Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms, Scientific Center for Biological Research, Russian Academy of Sciences, Nauki pr-t, 5, Pushchino, Moscow region, 142290, Russian Federation

ABSTRACT. We aimed to study the taxonomic diversity of cyanobacteria and eukaryotic microalgae that form phototrophic biofilms on artificial substrates in a small town. During the study, 19 strains of phototrophic microorganisms were isolated and characterized from various building materials of urban buildings and structures (concrete, cement-sand mortar, plaster, metal, and wood). Combined molecular phylogenetic and morphological analyses permitted the characterization of 5 cyanobacterial and 14 microalgal strains, among which the genera *Klebsormidium* and *Chloroidium* predominated. Substrate specificity of the phototrophs was confirmed: the highest taxonomic richness was associated with porous and moisture-retaining materials (concrete), as well as with metal surfaces. Of particular interest were two strains, *Leptolyngbya* sp. VKM Al-382 and *Cymatolege* sp. VKM Al-383, which are candidates for species new to science. For the first time, a member of the genus *Cymatolege*, previously known exclusively as an associated symbiont of marine sponges, was detected in a terrestrial biotope on an anthropogenic substrate, substantially expanding our knowledge of the ecological plasticity of this group. All obtained cultures were deposited in the microbial collection, thereby providing a foundation for further fundamental and applied research in the fields of biocorrosion and the development of bioprotection methods for building materials.

Keywords: phylogeny, 16S rRNA, 16S-23S ITS, ITS2, rbcL, All-Russian Collection of Microorganisms

For citation: Redkina V.V., Krivina E.S., Temraleeva A.D. Terrestrial phototrophic biofilms on artificial substrates: diversity of cyanobacteria and microalgae in a small urban town (Pushchino, Russia) // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - P. 437-469. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-437

1. Introduction

The surfaces of urban buildings and structures, made of various building materials (concrete, natural stone, plaster, and even glass), represent specific ecosystems subjected to constant exposure to abiotic and biotic factors (Macedo et al., 2021; Nowicka-Krawczyk et al., 2022; Huaman et al., 2025). Primary colonizers of these inert substrates are phototrophic microorganisms–cyanobacteria and eukaryotic microalgae, which, through photosynthesis, form an organic base for subsequent colonization by heterotrophic bacteria and fungi (Crispim et al., 2003; Albertano, 2012; Keshari et al., 2021).

Climatic conditions and the nature of the substrate determine the taxonomic composition and dominance of phototrophs in biofilms. In regions with a temperate climate, eukaryotic green algae more often dominate on facades, whereas in tropical and subtropical zones, as well as on surfaces exposed to extreme insolation and desiccation, cyanobacteria act as dominants (Crispim et al., 2003; Barberousse, 2006; Samad and Adhikary, 2008; Gaylarde, 2020). At the same time, the porosity and moisture-retaining capacity of the material (e.g., the difference between cement mortars and limestone) directly affect the prevalence of filamentous or coccoid forms, as well as the ratio of algae to cyanobacteria (Crispim et al., 2003; Reboah et al., 2023).

The survival of phototrophs on open facades requires specialized adaptations to UV radiation, temperature fluctuations, and prolonged desiccation (Albertano, 2012; Kala and Pandey, 2021; Keshari et al., 2021). To protect against ultraviolet radiation, many cyanobacteria synthesize screening pigments such as scytonemin and mycosporine-like amino

*Corresponding author. E-mail address: kalmykova_v_v@mail.ru (V.V. Redkina)

Received: July 02, 2026;
Accepted after revised: July 30, 2026;
Available online: August 28, 2026

© Author(s) 2026. This work is distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

acids (Albertano, 2012; Keshari and Adhikary, 2014; Gaylarde, 2020). The synthesis of extracellular polymeric substances (EPS) plays a key role in adaptation to drought and adhesion to the substrate. EPS form the protective matrix of the biofilm, retain moisture, creating a local microclimate, and ensure strong attachment of cells to the mineral matrix (Piontek and Lechów, 2014; Galindo-Alcázar et al., 2018; Kala and Pandey, 2021; Huaman et al., 2025).

Colonization by phototrophs causes two main types of damage: aesthetic and structural. Aesthetic degradation manifests as a change in the color of facades (the appearance of green, black, red, or brown spots) due to the presence of photosynthetic pigments, carotenoids, and scytonemin (Shirakawa et al., 2012; Gaylarde, 2020; Keshari et al., 2021). Structural damage is caused both by physical pressure arising from the cyclic swelling and shrinking of the EPS matrix during wetting-drying cycles, and by biochemical exposure: the secretion of organic acids and chelating agents that dissolve the mineral matrix of the substrate (Scheerer et al., 2009; Piontek and Lechów, 2014; Nowicka-Krawczyk et al., 2022; Huaman et al., 2025).

Although historically research has focused primarily on cultural heritage objects (Scheerer et al., 2009; Albertano, 2012), the problem of colonization of facades of modern urban buildings is of no less economic, aesthetic, and practical significance (D'Orazio and Quagliarini, 2023; Reboah et al., 2023).

The relevance of the research determines its aim–to study the diversity of cyanobacteria and algae in phototrophic biofilms of artificial substrates in a small town (Pushchino).

2. Materials and methods

2.1. Sampling

In May 2022, samples of visually distinguishable phototrophic biofilms on various artificial substrates were aseptically collected in Pushchino, Moscow Region (54°50' N 37°37' E), for the study: surfaces of a concrete basement and steps (four samples), a brick wall (two samples), metal (three samples), and wooden (one sample) posts (Fig. 1).

2.2. Isolation, cultivation, and purification of strains

Biofilm samples were plated onto solid BG11 medium with and without nitrogen and repeatedly subcultured until unialgal cultures were obtained. Strains were cultivated in a KC-200 climatostat (Smolensk SKTB SPU, Russia) under standard conditions (temperature +23 °C; light intensity 60–75 μmol photons m^{-2} s^{-1}; 12 h photoperiod). All studied strains were deposited in the ACSSI Algal Collection (Institute of Physicochemical and Biological Problems in Soil

Fig.1. Sampling sites for biofilms. A – entrance steps; B – plastered basement of a residential building; C – brick wall, mortar joint; D – bottom of the metal canopy support; E – metal canopy support; F – wooden canopy support.

Science, Russian Academy of Sciences, Pushchino) and subsequently transferred to the All-Russian Collection of Microorganisms (VKM, Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms, Russian Academy of Sciences, Pushchino).

2.3. Morphological analysis

Biofilm samples were examined on the day of sampling using a Leica DM750 light microscope (Germany). Morphological features and life cycles of the strains isolated from biofilms were observed on a Carl Zeiss Axio Scope A1 microscope (Germany) at the Shared Research Facility of the Institute of Physicochemical and Biological Problems in Soil Science (Russian Academy of Sciences, Pushchino) using differential interference contrast microscopy. The results were documented by photographs taken with a Carl Zeiss MRc 5 color digital camera (Germany). Observation periods ranged from two weeks to six months (such a prolonged period is due to the slow growth of cyanobacterial cultures). The following characteristics were taken into account for the morphological identification of cyanobacterial strains: thallus organization, presence and color of mucilage, presence of akinetes and heterocytes, size and shape of vegetative cells, among others. For eukaryotic algae, the following traits were recorded: thallus organization type, cell shape and size, presence and thickness of mucilaginous envelopes, number and type of chloroplasts, presence of a pyrenoid and structure of the starch envelope, modes of reproduction, among others. For cell size estimation, at least 100 measurements were performed. The classification of algae adopted in this study follows the International electronic database AlgaeBase (Guiry and Guiry, 2025).

2.4. DNA extraction, amplification, and sequencing

Total DNA was extracted using the DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, USA) column-based system according to the manufacturer's protocol. Amplification was performed using the ready-to-use PCR mix Screen Mix-HS (Evrogen, Russia). The primers and amplification conditions for the 16S rRNA gene and the 16S–23S ITS spacer for cyanobacteria (Taton et al., 2003; Strunecký et al., 2010), ITS2 for green microalgae (White et al., 1990), and rbcL for charophyte algae are listed in Table 1. Target PCR products were detected electrophoretically in a 1% agarose gel (SYBR Safe stain). For subsequent gel purification of amplicons, the Cleanup S-Cap kit (Evrogen, Russia) was used. Nucleotide sequencing was performed at Evrogen JSC (Russia).

2.5. Molecular phylogenetic analysis

Editing and assembly of consensus sequences were performed by visual comparison of forward and reverse chromatograms using the BioEdit program. Molecular-genetic identification of cyanobacterial and microalgal strains was carried out by homology search of the nucleotide sequences of the target markers using the BLASTn algorithm against the GenBank NCBI database (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov) (Sayers et al., 2021). Sequences were selected based on criteria of maximum similarity, read quality (without degenerate or unknown nucleotides), read length, and affiliation with type species and authentic collection strains. Multiple sequence alignment was performed using MAFFT ver. 7 (Katoh et al., 2019). The model of nucleotide substitution was selected using IQ-TREE v. 2.2 (Minh et al., 2020) based on the minimum value of the Bayesian Information Criterion (BIC) (Hoang et al., 2018). Evaluation of branch topology using the SH-aLRT test was implemented within the phylogenetic tree construction module of uGENE (Shimodaira, 2002). Phylogenetic reconstruction using the maximum likelihood (ML) method was performed in IQ-TREE v. 2.2. Bayesian inference (BI) phylogenetic trees were constructed using BEAST v10.5.0 (Baele et al., 2025) following the recommendations of Barido-Sottani et al. (2024). An uncorrelated relaxed clock model with a lognormal distribution of substitution rates across

Table 1. Primers and amplification conditions for target genes and spacers.

Marker	Primers	Conditions
16S rRNA + ITS	27F: AGAGTTTGATCMTGGCTCAG 359F*: GGGGGATTTTCCGCAATGGG 1407F*: TGTACACACCGCCCGTC	94°C – 5 min; 94°C – 30 s; 55°C – 30 s; 72°C – 3 min, 40 cycles; 72°C – 7 min.
	781R*: GACTACTGGGGTATCTAATCCCATT 1467R*: AAGGAGGTGATCCAGCCACA 23S30R: CTTCGCCTCTGTGTGCCTAGGT	
ITS2	ITS3F: GCATCGATGAAGAACGCAGC ITS4R: TCCTCCGCTTATTGATATGC	95°C – 3 min.; 95°C – 30 s; 57.6°C – 30 s; 72°C – 1 min, 35 cycles; 72°C – 10 min.
*rbc*L	KF2: ACTTACTACACTCCTGATTATGA	95°C – 2 min.; 94°C – 1 min; 47°C – 1 min; 72°C – 3 min, 40 cycles; 72°C – 8 min.
	KR2: GGTTGCCTTCGCGAGCTA	

Note: Asterisks (*) denote internal sequencing primers.

branches was employed as the molecular clock model, and a Birth–Death process was used as the tree prior. The analysis was performed using the Markov Chain Monte Carlo (MCMC) method. For each studied microbial group, the MCMC chain was run for 100 million generations. Parameters and trees were sampled every 10,000 generations after discarding the first 25% of generations as burn-in. Convergence of runs and adequate sampling were verified in Tracer v1.7 (Rambaut et al., 2018), ensuring that all parameters reached an effective sample size (ESS) > 200. Phylogenetic trees were visualized in FigTree v. 1.3.1. As statistical support for tree nodes, SH-aLRT (Shimodaira–Hasegawa-like approximate likelihood ratio test), ML bootstrap percentages (BP), and BI posterior probabilities (PP) are indicated. Pairwise differences between nucleotide sequences were characterized using genetic distances, measured as the percentage of nucleotide mismatches in aligned sequences, calculated in MEGA 11 (Tamura et al., 2021). It was taken into account that genetic distance thresholds are not universal across different taxa but depend on tree topology, parameters of the evolutionary model, taxonomic composition, and the completeness and representativeness of the particular sequence dataset (Collins and Cruickshank, 2013). Prediction of the secondary structure of the conserved D1-D1′ and BoxB helices of the 16S–23S ITS spacer was performed using the RNAfold web server (http://rna.tbi.univie.ac.at//cgi-bin/RNAWebSuite/RNAfold.cgi, accessed on 20 June 2026).

3. Results and discussion

As a result of the study, 19 strains of cyanobacteria and microalgae were isolated (Table 2, Fig. 2).

3.1. Cyanobacteria

The cyanobacteria were represented by five strains belonging to three orders: Leptolyngbyales, Nodosilineales, and Oscillatoriales.

Strain **VKM Al-380** exhibits the following morphological characteristics: filaments long, wavy, 3–4.3 μm wide, within thin colorless mucilaginous sheaths (Fig. 2A). False branching is occasionally observed. Trichomes of olive-green color, 2–2.9 μm wide, isopolar or slightly heteropolar (in older cultures), constricted at cross-walls. Cells range from very short (from 1 μm) to isodiametric; the apical cell is rounded. Necridic cells are rarely found.

In the 16S rRNA tree, the strain clustered within the *Leptolyngbya sensu stricto* clade with high statistical support (Fig. 3). Genetic distances between VKM Al-380 and authentic strains of different species within the clade ranged from 0.4% to 1.1%. This level corresponded to interspecific divergence within this clade, since distances between authentic strains of *L. boryana, L. corticola, L. tenerrima*, and *L. angustata* ranged from 0.1% to 0.9%. The secondary structure of the D1-D1' helix of the 16S–23S ITS spacer of VKM Al-380 was identical to that of *L. corticola* (Fig. 4) and differed from those of *L. boryana* and *L. tenerrima* in the nucleotide composition of the terminal loop. The secondary structure of the boxB helix of strain VKM Al-380 was unique compared to the already described species of the genus *Leptolyngbya* (Fig. 5).

The morphology of strain VKM Al-380 is most similar to the description of *L. corticola* (Johansen et al., 2011) in several characters: trichome width, slight heteropolarity in ageing cultures, and the presence of necridic cells. However, the genetic distance value, the topology of the 16S rRNA tree, and the uniqueness of the boxB helix secondary structure of the 16S–23S ITS spacer do not allow us to confidently conclude that our strain is a member of that species. Therefore, we identify VKM Al-380 as *Leptolyngbya* sp.

The sister group in the 16S rRNA tree included strain **VKM Al-382** (Fig. 3). This strain is characterized by straight or curved filaments 2.3–2.6 μm wide, with very thin, almost indistinct, colorless mucilaginous sheaths, without branching (Fig. 2B). Trichomes of olive-green color, 2–2.4 μm wide, isopolar, constricted at cross-walls. Cells are isodiametric or slightly shorter/longer than wide. The apical cell is conical with a rounded tip. Necridic cells were not observed.

Among the species of the genus *Leptolyngbya* that do not belong to the *Leptolyngbya sensu stricto* clade, i.e., *L. alkalina, L. koreana, L. vaporiphila, L. terrestris, L. salina*, and *L. hodgsonii*, genetic distances range from 1.4% to 7%. The distances between VKM Al-382 and the aforementioned species are 3.0–5.9%, corresponding to interspecific divergence levels. Thus, VKM Al-382 is a candidate for a new, undescribed species of cyanobacteria and is presently designated as *Leptolyngbya* sp.

Strain **VKM Al-385** exhibits the following morphological characteristics: filaments long, straight or curved, 4–5 μm wide (Fig. 2C). False branching is occasionally observed. Mucilaginous sheaths are almost colorless in young cultures and dark grey in old ones. Trichomes of olive-green color, 2.3–2.7 μm wide, constricted at cross-walls, and may coil spirally within the sheath. Cells are barrel-shaped, isodiametric, or slightly shorter than wide. The apical cell is rounded. Necridic cells were not observed.

In the 16S rRNA tree, the strain clustered within a group that united representatives of two species, *Phormidesmis priestleyi* and *P. nigrescens*, and grouped with *P. priestleyi* G-49 with high statistical support (Fig. 3). The genetic distance between VKM Al-385 and G-49 strains was only 0.1%, while distances to the authentic *P. nigrescens* RL 08-6 and to *P. priestleyi* ANT. L66.1 (proposed as a reference strain for *P. priestleyi* by Davydov and Vilnet, 2022) were 1.6% and 1.3%, respectively. The secondary structures of the D1-D1' helix and the boxB helix of the 16S–23S ITS spacer of our strain were identical to those of *P. priestleyi* G-49 (Figs 4, 5). Since strain *P. priestleyi* G-49 was assigned to this species based on recent detailed studies (Davydov and Vilnet, 2022), VKM Al-385 was likewise identified as *Phormidesmis priestleyi*.

Strain **VKM Al-383** exhibited an unusual phenotype. Filaments are long, straight or curved, occasionally falsely branched, 2.7–3.6 μm wide (Fig. 2D). Sheaths are thin, colorless, containing one (rarely

Table 2. Strains of cyanobacteria and eukaryotic microalgae isolated from biofilms on artificial substrates in the town of Pushchino.

No.	Taxon name	Collection strain, VKM Al-	Locality, substrate
Phylum Cyanobacteriophyta Class Cyanophyceae Order Leptolyngbyales			
1	*Leptolyngbya* sp.	380	Basement of the building, microdistrict G, building 26, entrance 1. The substrate: concrete
2	*Leptolyngbya* sp.	382	Basement of the building, microdistrict G, building 26, entrance 1. The substrate: concrete
3	*Phormidesmis priestleyi*	385	Lower part of the metal canopy support, microdistrict G, building 6, entrance 2 (Fig. 1D). The substrate: metal
Order Nodosilineales			
4	*Cymatolege* sp.	383	Steps, microdistrict G, building 28, entrance 1 (Fig. 1A). The substrate: concrete
Order Oscillatoriales			
5	*Microcoleus autumnalis*	384	Lower part of the metal canopy support, microdistrict G, building 6, entrance 2. The substrate: metal
Phylum Chlorophyta Class Trebouxiophyceae Order Prasiolales			
6	*Tritostichococcus corticola*	401	Steps, microdistrict G, building 28, entrance 1. The substrate: concrete
7	*Deuterostichococcus alpinus*	411	Wooden canopy support, BTI building (Fig. 1F). The substrate: wood
Order Watanabeales			
8	*Chloroidium saccharophilum*	400	Steps, microdistrict G, building 28, entrance 1. The substrate: concrete
9	*Chloroidium saccharophilum*	406	Metal canopy support, BTI building (Fig. 1E). The substrate: metal
10	*Chloroidium saccharophilum*	407	Steps, microdistrict G, building 28, entrance 1. The substrate: concrete
Class Chlorophyceae Order Sphaeropleales			
11	*Pseudomuriella schumacherensis*	399	Steps, microdistrict G, building 28, entrance 1. The substrate: concrete
12	*Pseudomuriella schumacherensis*	404	Lower part of the metal canopy support, microdistrict G, building 6, entrance 2. The substrate: metal
13	*Coelastrella affinis*	567	Brick wall, mortar joint, microdistrict AB (Fig. 1C). The substrate: cement-sand mortar
Phylum Charophyta Class Klebsormidiophyceae Order Klebsormidiales			
14	*Klebsormidium flaccidum*	402	Plastered basement, microdistrict G, building 7, entrance 1 (Fig. 1B). The substrate: plaster
15	*Klebsormidium flaccidum*	403	Lower part of the metal canopy support, microdistrict G, building 6, entrance 2. The substrate: metal
16	*Klebsormidium flaccidum*	405	Lower part of the metal canopy support, microdistrict G, building 5, entrance 2. The substrate: metal
17	*Klebsormidium mirabile*	398	Basement of the building, microdistrict G, building 26, entrance 1. The substrate: concrete
18	*Klebsormidium mirabile*	409	“Resonance” Club, basement, microdistrict D, building 20A. The substrate: concrete
19	*Klebsormidium mirabile*	410	“Resonance” Club, basement, microdistrict D, building 20A. The substrate: concrete

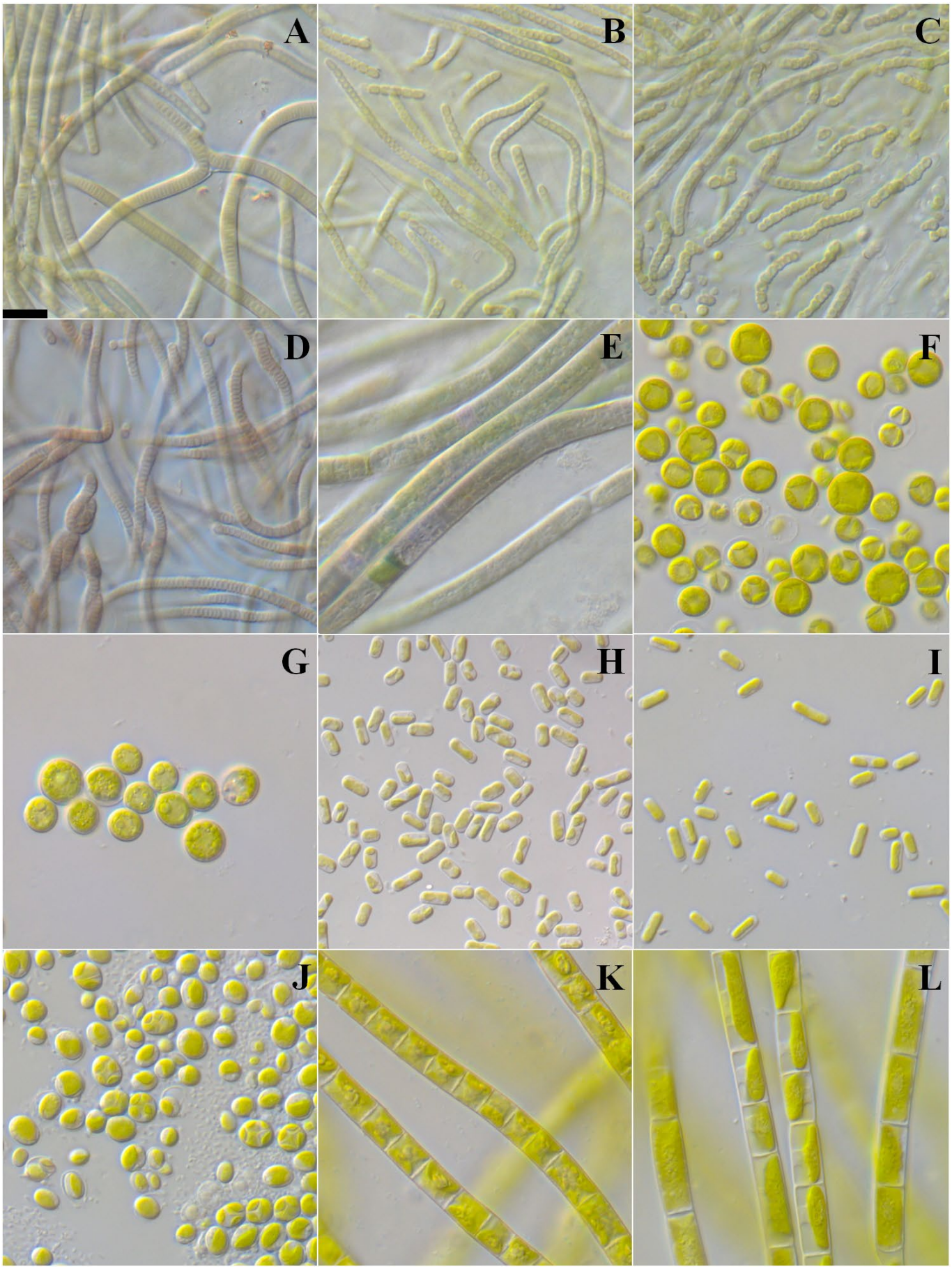


Fig.2. Photomicrographs of cyanobacterial and eukaryotic microalgal strains isolated from biofilms on artificial substrates in the town of Pushchino. A – *Leptolyngbya* sp. VKM Al-380; B – *Leptolyngbya* sp. VKM Al-382; C – *Phormidesmis priestleyi* VKM Al-385; D – *Cymatolege* sp. VKM Al-383; E – *Microcoleus autumnalis* VKM Al-384; F – *Pseudomuriella schumacherensis* VKM Al-399; G – *Coelastrella affinis* VKM Al-567; H – *Tritostichococcus corticola* VKM Al-401; I – *Deuterostichococcus alpinus* VKM Al-411; J – *Chloroidium saccharophilum* VKM Al-406; K – *Klebsormidium flaccidum* VKM Al-402; L – *Klebsormidium mirabile* VKM Al-409. The scale bar in (A) applies to all panels and is 10 μm.

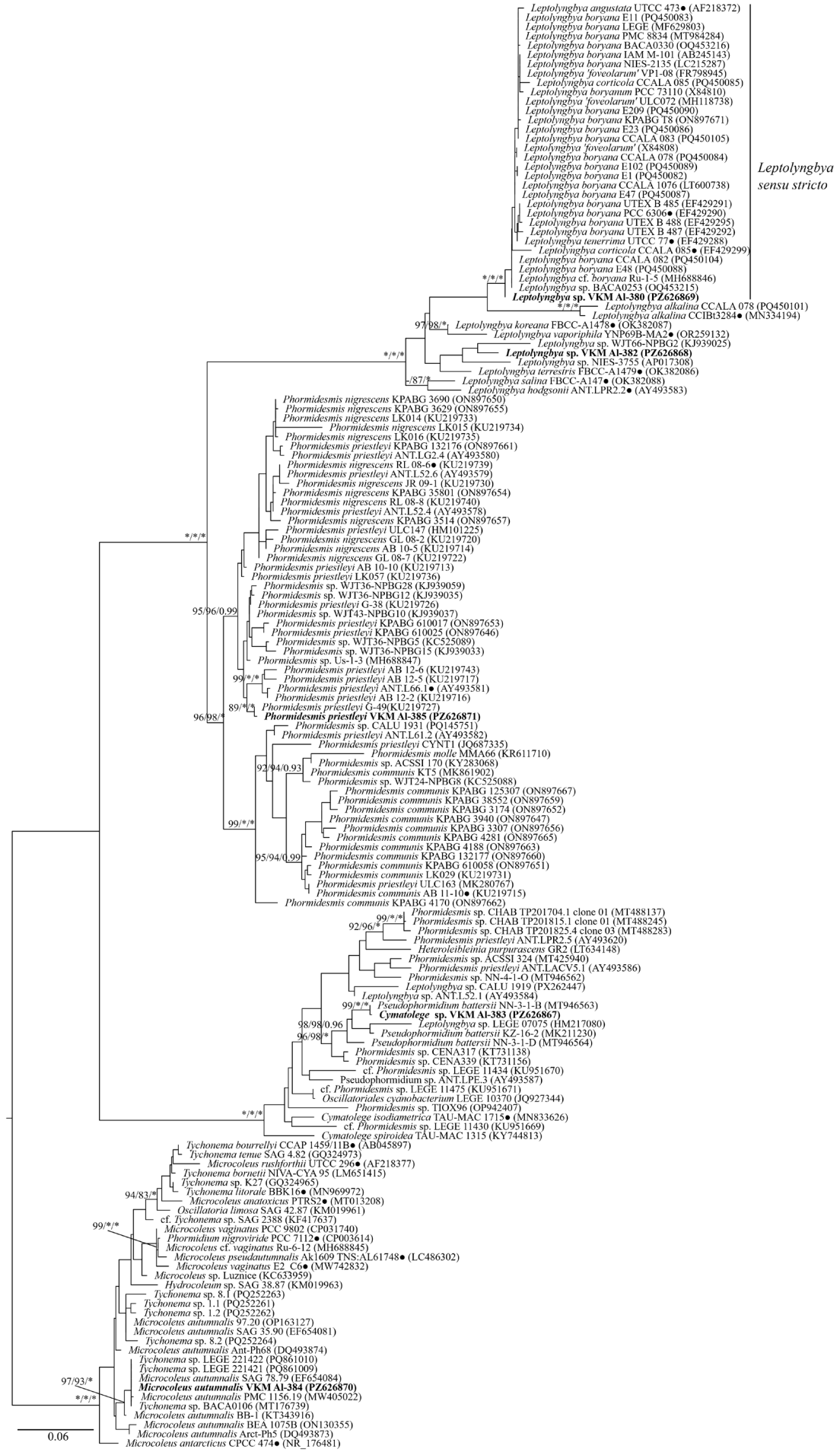


Fig.3. Phylogenetic tree of cyanobacteria based on the analysis of 16S rRNA gene sequences. SH-aLRT and bootstrap (BP) values below 90% and posterior probabilities (PP) below 0.95 are not shown. The GTR + I + G nucleotide substitution model was used. Authentic strains of taxonomically recognized species are indicated by a black dot. Strains examined in the present work are highlighted in bold.

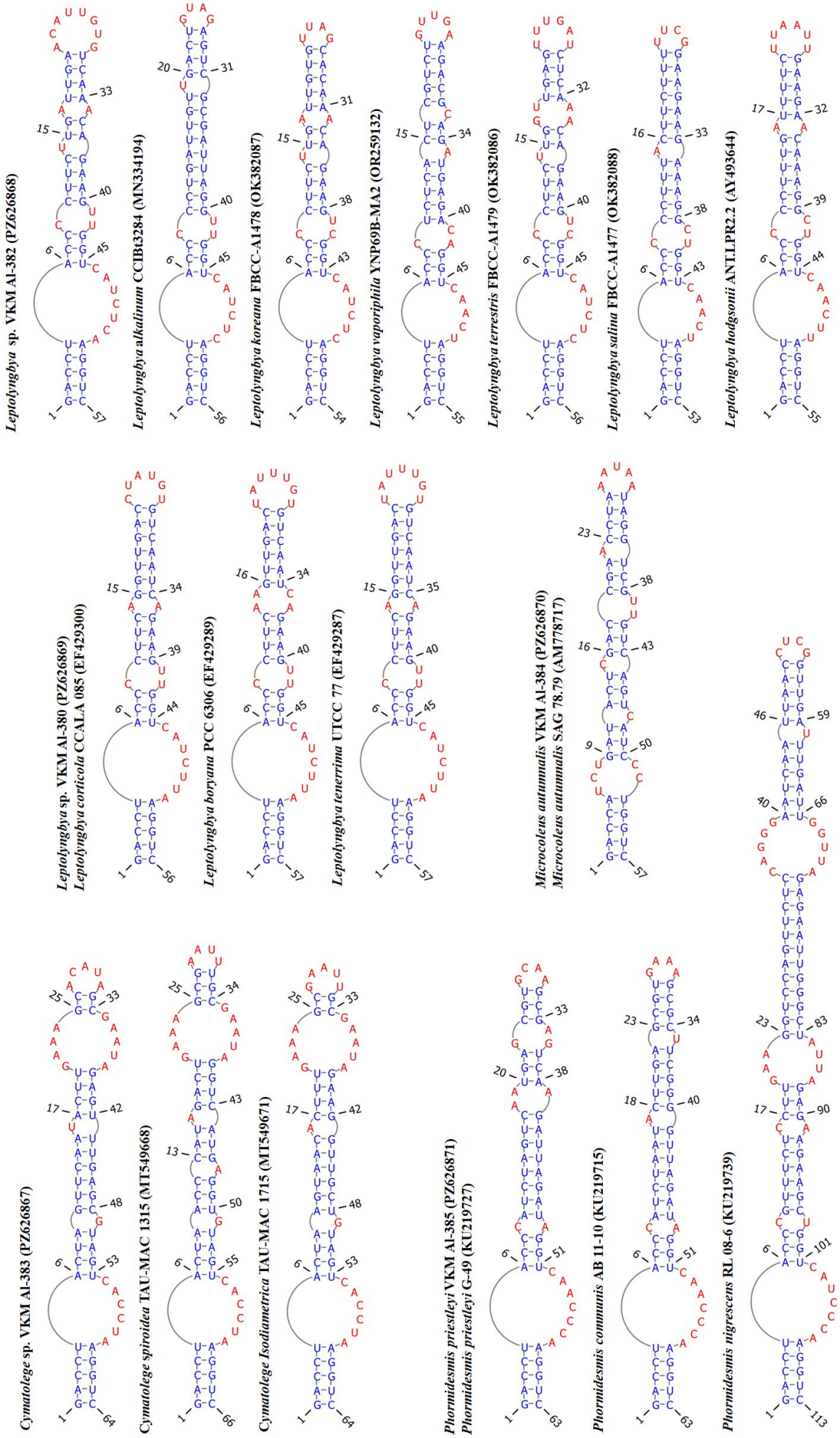


Fig.4. Secondary structure of the D1-D1' helix of the 16S–23S ITS spacer.

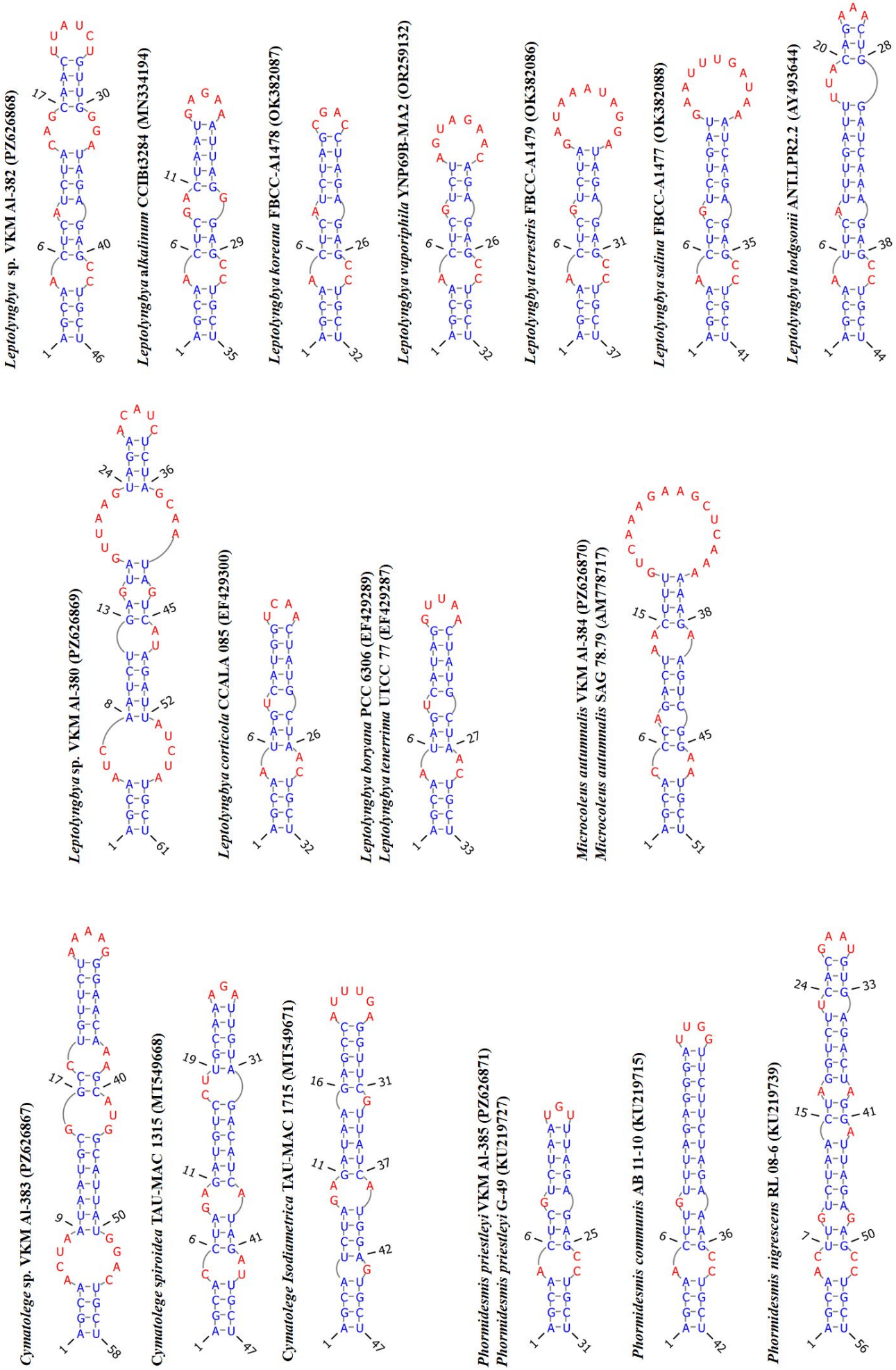


Fig.5. Secondary structure of the boxB helix of the 16S–23S ITS spacer.

more) trichome. Trichomes are pinkish, slightly constricted at cross-walls, 2.4–3.3 μm wide, and in some places spirally twisted, forming knots. Cells are shorter (from 1 μm) than wide, rounded at the trichome ends. Necridic cells are present.

In the 16S rRNA tree, this strain groups with strains designated as '*Pseudophormidium*' *battersii* (Fig. 3), which were found in saline habitats (Mikhailyuk et al., 2018; Sommer et al., 2020). Their taxonomic status is uncertain and requires revision (Sommer et al., 2020). In turn, these strains form, with maximum statistical support, a single clade with representatives of the recently described genus *Cymatolege*. Notably, the two described species, *C. spiroidea* and *C. isodiametrica*, were found in marine habitats in association with sponges and had a bright pink coloration (Konstantinou et al., 2021). The genetic distances between VKM Al-383 and the authentic strains of *C. spiroidea* and *C. isodiametrica* are 4.2% and 2.7%, respectively, while the distance between the two described species is 3.3%. The secondary structures of the D1-D1' helix and the boxB helix of the 16S–23S ITS spacer of our strain differ from those of the two described species (Figs 4, 5). Thus, VKM Al-383 forms a separate phylogenetic lineage within the clade corresponding to the genus and likely represents a new species of the genus *Cymatolege*.

Strain **VKM Al-384** is morphologically similar to members of the genus *Microcoleus* and is characterized by the following features: filaments 6.2–9.0 μm wide, with colorless mucilaginous sheaths (Fig. 2E). Trichomes are olive-green, 5–6.8 μm wide, not constricted at cross-walls, and capable of gliding motility. Cells are shorter than wide. The terminal cell bears a calyptra. Necridic cells are present.

In the 16S rRNA tree, the strain grouped with *Microcoleus autumnalis* SAG 78.79 with high statistical support (Fig. 3). There were no genetic distances between them. The secondary structures of the D1-D1' helix and the boxB helix of the 16S–23S ITS spacer were identical in both strains (Figs 4, 5). These strains, in turn, are part of a large clade that includes the authentic strain of *M. vaginatus* E2_C6 and representatives of other species of the genus *Microcoleus*. Thus, at present, we identify VKM Al-384 as *Microcoleus autumnalis*.

Eukaryotic microalgae were represented by 14 strains from two divisions, Chlorophyta (classes Trebouxiophyceae and Chlorophyceae) and Charophyta (class Klebsormidiophyceae).

3.2. Green algae

Strain **VKM Al-411** exhibited a typical morphotype of the genus *Stichococcus* (Pröschold and Darienko, 2020) (Fig. 2I). Cells were solitary or in pseudofilaments of 2–3 cells, measuring 5.3–9 × 2.4–3.2 μm. The length-to-width ratio ranged from 2.2 to 3. The chloroplast was single, parietal, without a pyrenoid. Reproduction occurred by cell division.

VKM Al-411 grouped within the genus *Deuterostichococcus* (Fig. 6) and clustered with the authentic strain *D. alpinus* FACHB-2327 (SH-aLRT–95%; BP–97%; PP–0.99), with a genetic distance of 1.7% (intraspecific level). For comparison, the level of genetic divergence between *D. epilithicus* and *D. alpinus* was 17.8–18.1%.

Our strain differed somewhat from the recently described *D. alpinus* (Cao et al., 2025) in smaller cell dimensions and the absence of a pyrenoid as observed under light microscopy. However, cell dimensions may vary depending on culture age and cultivation conditions, and transmission electron microscopy is required to confirm the presence or absence of a pyrenoid. Therefore, we identify strain VKM Al-411 as *D. alpinus*.

A similar morphology was exhibited by strain **VKM Al-401** (Fig. 2H). Cells were solitary, measuring 4–8 (17) × 2.4–3.5 μm. The length-to-width ratio ranged from 2 to 2.6. The chloroplast was single, parietal, without a pyrenoid. Reproduction occurred by cell division.

According to the phylogenetic analysis, strain VKM Al-401 belonged to the species *Tritostichococcus corticola* (Fig. 6), as it clustered with the authentic strain ST-2, and the level of genetic divergence was 3.1%, corresponding to an intraspecific level (interspecific distances ranged from 25.3% to 36.9%). However, as in the previous case, it differed from the described species (Pröschold and Darienko, 2020) by somewhat smaller cell dimensions and the absence of a pyrenoid as observed under light microscopy.

Strains **VKM Al-400, 406,** and **407** were morphologically similar to the green microalgae of the genus *Chloroidium* (Darienko et al., 2018) (Fig. 2J). Cells were solitary, broadly ellipsoid to nearly spherical, measuring 7.8–8.5 × 5.0–6.5 μm. The chloroplast was single, parietal, sometimes faintly lobed. The pyrenoid was naked and faintly visible. Reproduction occurred by 2–4–8 autospores.

According to the results of the ITS2 internal transcribed spacer analysis, strains VKM Al-400, VKM Al-406, and VKM Al-407 belonged to the genus *Chloroidium* and clustered with the authentic strain *C. saccharophilum* SAG 2149 with high statistical support (SH-aLRT–96%; BP–95%; PP–1.00) (Fig. 7). The level of genetic divergence between these VKM strains was 0–0.5%, and between them and SAG 2149 it was 0.5% to 0.9%, corresponding to an intraspecific level. For comparison, the genetic distances between strains of *C. ellipsoideum* and *C. pseudoellipsoideum* were 1.9%, and between *C. pseudoellipsoideum* and *C. lichinum* – 3.4%. Thus, we identify these strains as *C. saccharophilum*.

Based on morphological characteristics, strains **VKM Al-399** and **VKM Al-404** were initially identified as *Bracteacoccus* sp. (Fig. 2F): solitary cells, nearly spherical to spherical, with numerous chloroplasts in mature cells and a parietal chloroplast comprising two lobes in young cells, lacking a pyrenoid. Cell diameter reached 11 μm for strain VKM Al-404 and 13 μm for VKM Al-399. Reproduction occurred by 2–4–8 autospores. Zoosporogenesis was not observed in culture.

According to the ITS2 analysis, strains VKM Al-399 and VKM Al-404 were members of the genus *Pseudomuriella* and clustered with the authentic strain *P. schumacherensis* UTEX 2252 with maximum statistical support (Fig. 8). Genetic distances between

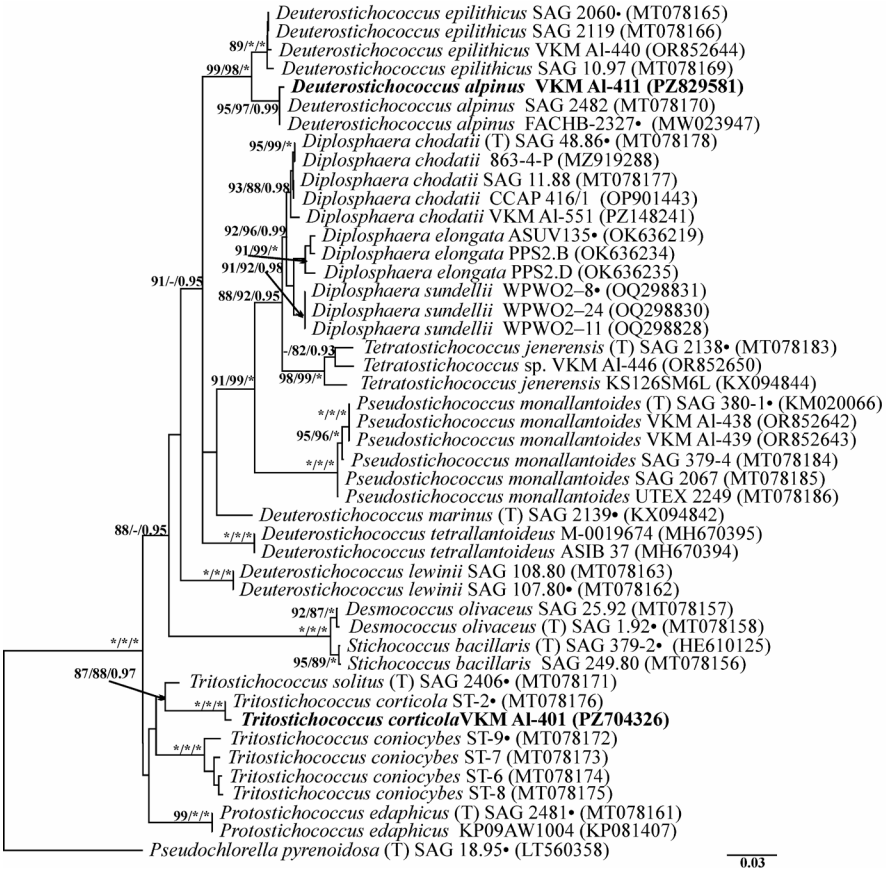


Fig.6. Rooted phylogenetic tree of green algae of the *Stichococcus* clade based on internal transcribed spacer ITS2 sequences (376 bp). Statistical support for tree nodes is indicated as SH-aLRT/BP/PP values. SH-aLRT and BP values below 80% and PP below 0.8 are not shown. Nucleotide substitution model: TPM2u + F + I + G4. Legend: • – authentic strains; (T) – type species; * – maximum statistical support. VKM strains examined in this study are highlighted in bold.

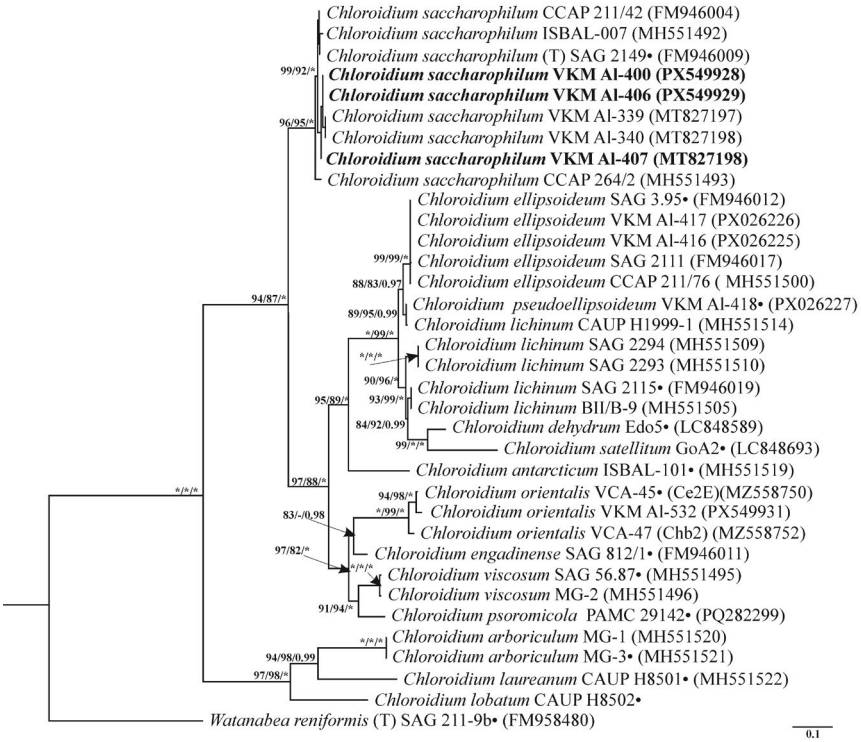


Fig.7. Rooted phylogenetic tree of green algae of the genus *Chloroidium* based on internal transcribed spacer ITS2 sequences (296 bp). Statistical support for tree nodes is indicated as SH-aLRT/BP/PP values. SH-aLRT and BP values below 80% and PP below 0.8 are not shown. Nucleotide substitution model: TIM2 + F + I + G4. Legend: • – authentic strains; (T) – type species; * – maximum statistical support. VKM strains examined in this study are highlighted in bold.

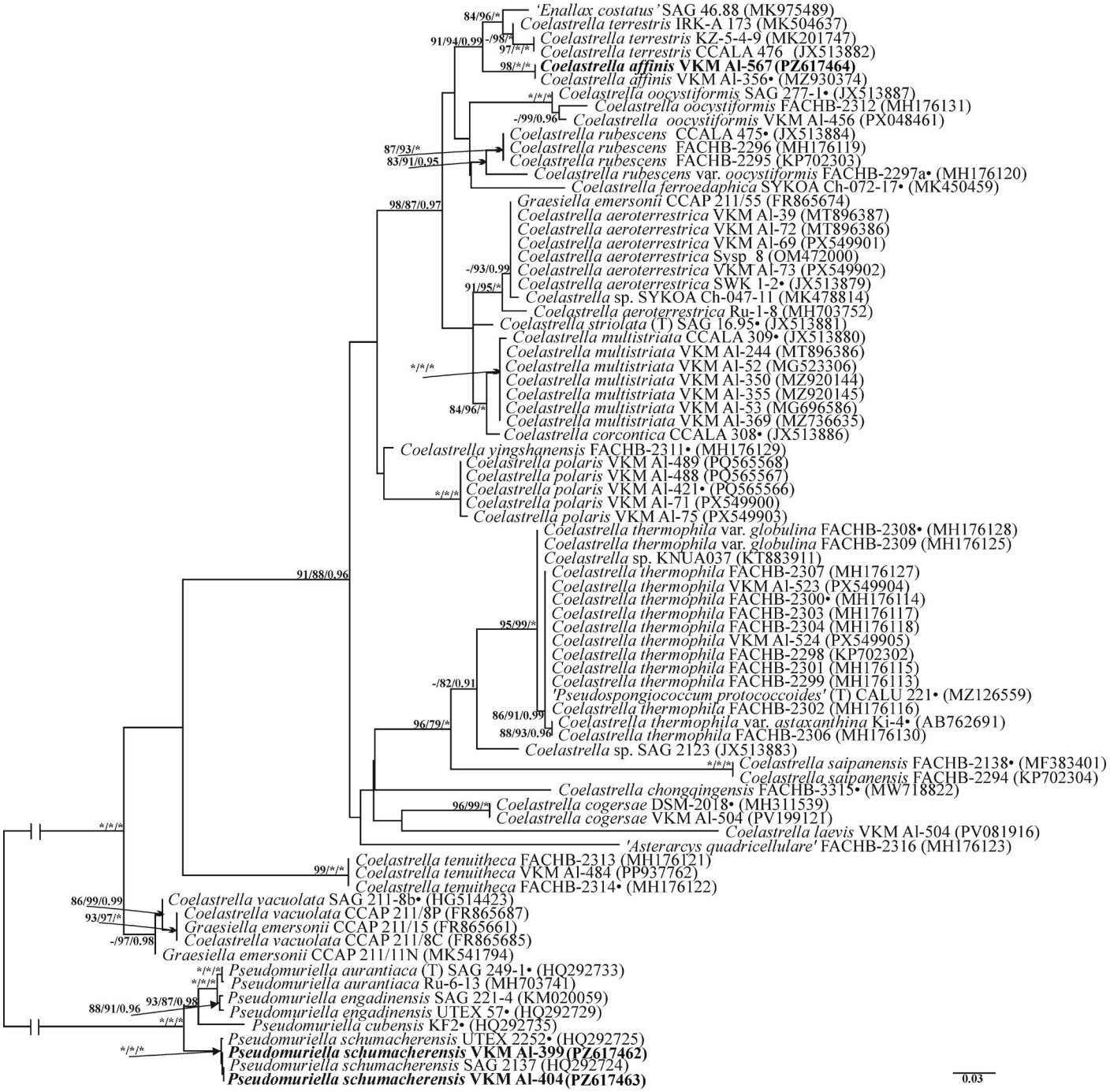


Fig.8. Rooted phylogenetic tree of green algae of the genera *Coelastrella* and *Pseudomuriella*, based on ITS2 fragment sequences (367 bp). SH-aLRT and BP values below 80% and PP below 0.8 are not shown. Nucleotide substitution model: TIM2 + I + G4. Legend: • – authentic strains; (T) – type species; * – maximum statistical support. VKM strains examined in this study are highlighted in bold.

strains VKM Al-399 and VKM Al-404 were 0.4%, and those between them and the *P. schumacherensis* strain UTEX 2252 – 0–0.4% (intraspecific level). For comparison, the minimum interspecific distances, as exemplified by members of *P. aurantica* and *P. engadinensis*, were 1.6%. The morphology of our strains is similar to the description of *P. schumacherensis* (Fučíková et al., 2011). Thus, we identify strains VKM Al-399 and VKM Al-404 as *P. schumacherensis*.

Strain **VKM Al-567** was morphologically similar to representatives of the genus *Coelastrella* (Fig. 2G) and was characterized by the following features: cells solitary, nearly spherical or broadly oval, sometimes with polar thickenings, 8.4–11.5(17) × 7.3–10 μm; chloroplast parietal, divided into segments; a single pyrenoid surrounded by a starch sheath. Reserve products included oil droplets. Asexual reproduction occurred by 2–8 autospores. Zoospores were not observed.

VKM Al-567 grouped within the genus *Coelastrella* (Fig. 8) and was assigned to the species *C. affinis*, as it clustered with the authentic strain of this species, VKM Al-356 (SHaLRT–98%; BP–100%; PP–1.00), with a genetic distance of only 0.8%. Within the genus *Coelastrella*, the minimum interspecific threshold between *C. multistriata* and *C. corcontica* based on this marker was 2%. The morphology of VKM Al-567 generally corresponds to the description of *C. affinis* (Krivina et al., 2024), and it is therefore assigned to this species.

3.3. Charophyte algae

Charophycean microalgae were represented by the most frequently encountered genus, Klebsormidium. In cultures, long, straight or slightly curved filaments were observed, measuring 7.2–15 μm in width in strains **VKM Al-398, 409**, and **410**, and 6–9 μm in strains **VKM Al-402, 403**, and **405**. Cells contained a single parietal chloroplast with a pyrenoid surrounded by a starch sheath. Strain VKM Al-410, upon culture ageing, was characterized by considerable thickening of the cell walls and the presence of H-shaped fragments.

For the identification of *Klebsormidium* members (order Klebsormidiales, class Klebsormidiophyceae, division Charophyta), the plastid gene *rbc*L was used. This choice is due to the fact that in members of this genus, not only the 18S rRNA gene but also the internal transcribed spacers ITS1 and ITS2 are highly conserved, so their use does not allow clear species delineation, particularly within clade E (Rindi et al., 2011; Mikhailyuk et al., 2015; Samolov et al., 2019). According to the *rbc*L analysis, strains VKM Al-398, VKM Al-409, and VKM Al-410, together with strain K10, clustered with the authentic strain *K. mirabile* VKM Al-436 (SHaLRT–99%; BP–100%; PP–1.00) within clade E according to the classification proposed by Rindi et al. (2011) (Fig. 9). Genetic differences between strains VKM Al-398, VKM Al-409, and VKM Al-410 were absent, and between this group of strains and the authentic strain *K. mirabile* VKM Al-436 they amounted to 0.9–1%. To interpret genetic distance thresholds, we referred to the minimum interspecific threshold of 2% for the *rbc*L gene in clades F and G, where a detailed taxonomic revision had been previously performed (Mikhailyuk et al., 2015; Samolov et al., 2019). For instance, genetic distances between *K. mucosum* and *K. crenulatum* were 2%, and between *K. karooense* and *K. africanum*–2.2%. It should be noted that within clade E proper, whose true species richness still requires clarification, the minimum interspecific distances between the authentic strains *K. nitens* SAG 13.91 and *K. dissectum* SAG 2417 are only 0.7%. Based on *rbc*L analysis, Kaplan et al. (2012) even suggested that they might actually represent a single species. However, Mikhailyuk et al. (2015), using a polyphasic approach, though assigned them to different species. Nevertheless, nevertheless into account the morphology, which corresponds to the species description (Tukhtaboeva et al., 2025), the tree topology, and the distance thresholds in clades where the taxonomic status of species is unequivocal, at this stage of the study we assign strains VKM Al-398, VKM Al-409, and VKM Al-410 to the species *K. mirabile*.

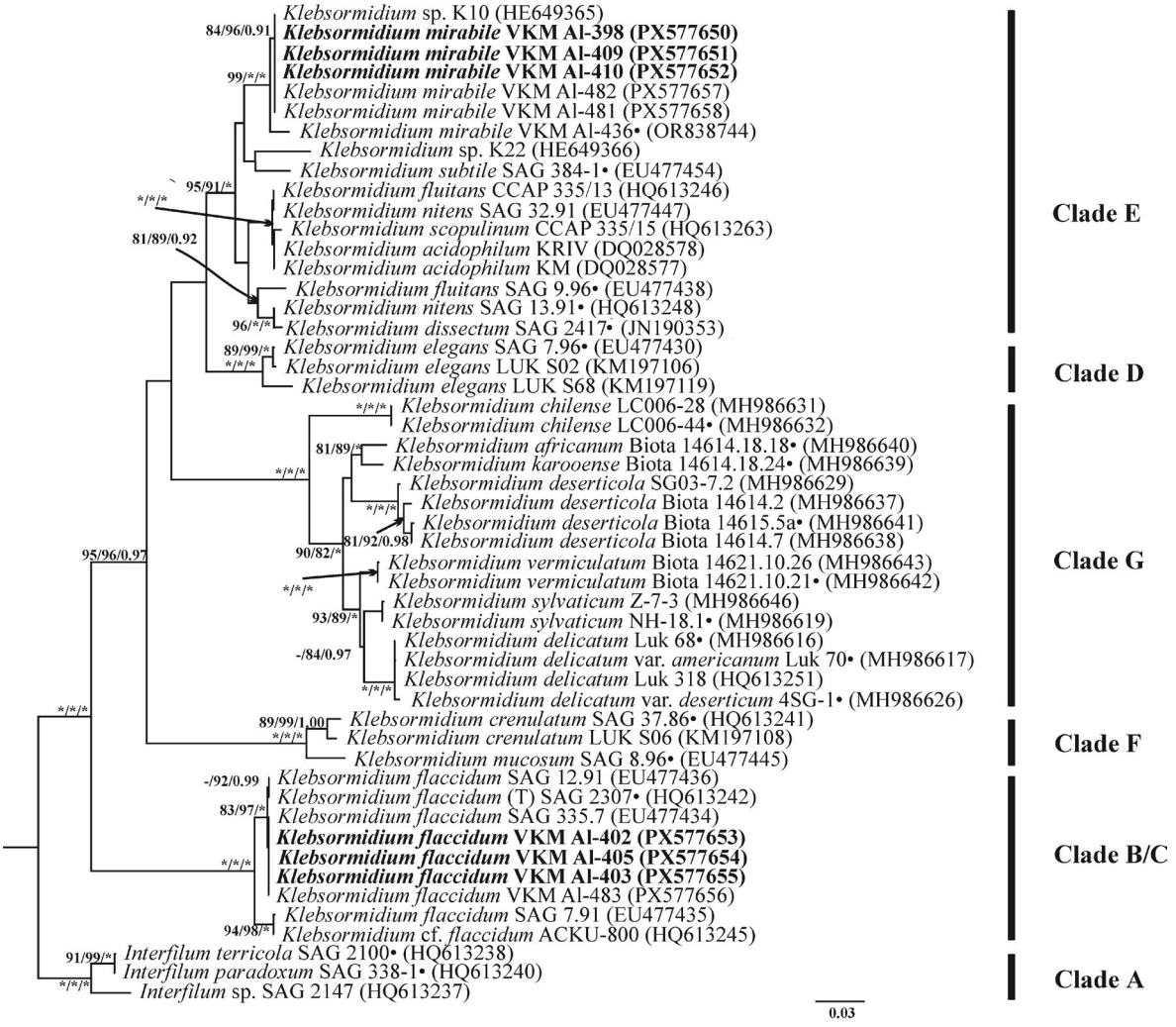


Fig.9. Rooted phylogenetic tree of charophyte algae of the genus *Klebsormidium* based on *rbc*L gene sequences (1217 bp). Statistical support for tree nodes is indicated as SH-aLRT/BP/PP values. SH aLRT and BP values below 80% and PP below 0.8 are not shown. Nucleotide substitution model: TPM2 + F + G4. Legend: • – authentic strains; (T) – type species; * – maximum statistical support. VKM strains examined in this study are highlighted in bold.

Strains VKM Al-402, VKM Al-403, and VKM Al-405 undoubtedly belonged to the species *K. flaccidum*. Their morphology corresponds to the species description (Lokhorst, 1996) (Fig. 2K). They clustered within clade B/C (Fig. 9) and grouped with the authentic strain SAG 2307 of this species with high statistical support (SHaLRT–83%; BP–97%; PP–1.00). Genetic distances between these strains and the authentic strain SAG 2307 ranged from 0 to 0.2%.

The data on the species composition of phototrophic biofilms are of considerable practical importance for the development of targeted biocontrol strategies for building materials. As recent studies have shown, biodegradation is not limited to mechanical deterioration but represents a two-stage process: rapid acid-induced degradation of the mineral matrix, followed by chronic damage mediated by biofilm persistence (Nowicka-Krawczyk et al., 2026). Knowledge of the exact species composition enables prediction of the corrosion mechanism and selection of appropriate protection methods.

From the perspective of biocorrosion, the strains isolated in our study exhibit different aggressive potentials. The most aggressive taxon is *Chloroidium saccharophilum* (found in our study on concrete and metal). According to metabolomic and microscopic data, this species possesses thick cell walls and a pronounced capacity for intensive synthesis of low-molecular-weight organic acids (oxalic, citric, and acetic acids). These acids trigger mechanisms for metal ion chelation and the acid dissolution of the mineral matrix (Nowicka-Krawczyk et al., 2026). Moreover, upon the natural detachment of mature *C. saccharophilum* biofilms, the alga can physically detach mineral grains from the substrate surface, causing irreversible physical damage (Nowicka-Krawczyk et al., 2025).

At the same time, the charophycean algae of the genus *Klebsormidium* (found on concrete, plaster, and metal), which dominated our samples, exhibit a different strategy. Their chemical aggressiveness is considered moderate (Nowicka-Krawczyk et al., 2026); however, they possess high metabolic plasticity and stress tolerance (Holzinger and Pichrtová, 2016). *Klebsormidium* plays a key role in biofilm stabilization: it actively synthesizes extracellular polymeric substances that retain moisture on the material surface, creating a local microclimate. This leads to physical weathering (freeze-thaw cycles and swelling) and maintains the constant humidity required for corrosion processes (Nowicka-Krawczyk et al., 2022; Nowicka-Krawczyk et al., 2025).

Among cyanobacteria, high corrosive activity is exhibited by filamentous forms with mucilage sheaths, such as *Microcoleus autumnalis*, *Phormidesmis priestleyi*, and species of the genus *Leptolyngbya*, found on concrete and metal structures. The presence of mucilaginous sheaths and the ability to synthesize UV-screening pigments (e.g., scytonemin) enable them to survive in the extreme conditions of the urban environment, while continuing to penetrate the substrate and release metabolites that degrade the material (Kala and Pandey, 2021; Keshari et al., 2021). The abundant mucilaginous matrix not only physically retains moisture but also prepares the substrate for subsequent succession by heterotrophic microorganisms (fungi and bacteria), which possess an even higher destructive potential (Nowicka-Krawczyk et al., 2022). Of particular interest is the first-time occurrence of *Cymatolege* sp. on anthropogenic substrates, as revealed by our study. The high ecological plasticity of this genus, previously known mainly from natural habitats, suggests its potential for active colonization and likely involvement in biodeterioration processes, warranting further investigation into its destructive potential.

4. Conclusions

In terrestrial biofilms on artificial substrates in the town of Pushchino, we identified 19 strains of phototrophic microorganisms, including 5 cyanobacterial strains (orders Leptolyngbyales, Nodosilineales, and Oscillatoriales) and 14 strains of eukaryotic microalgae (divisions Chlorophyta and Charophyta). The dominant taxa were members of the genera *Klebsormidium* (Charophyta) and *Chloroidium* (Chlorophyta).

Substrate specificity of the phototrophs was confirmed: the highest taxonomic diversity (almost 60% of the total number of taxa examined) was associated with concrete, a porous and moisture-retaining material. Slightly more than 40% of the taxa were found on metal surfaces. Both substrate types were colonized by cyanobacteria, the green microalgae *Chloroidium saccharophilum* and *Pseudomuriella schumacherensis*, as well as by charophycean algae of the genus *Klebsormidium*. From the remaining substrates (wood, plaster, and cement-sand mortar), one microalgal species each was isolated.

Based on a combination of morphological characters, phylogenetic tree topology, and genetic distances, two strains–*Leptolyngbya* sp. VKM Al-382 and *Cymatolege* sp. VKM Al-383 were identified as candidates for new species, requiring further detailed investigation.

For the first time, a member of the genus Cymatolege, previously known only as an associated symbiont of marine sponges, was discovered in a subaerial terrestrial biotope on an anthropogenic concrete substrate. This significantly expands the known ecological range and our understanding of the plasticity of this cyanobacterial group.

Deposition of all studied strains in the All-Russian Collection of Microorganisms ensures the availability of biological material for future fundamental and applied research in the fields of biocorrosion and bioprotection of building materials.

Acknowledgements

The authors are grateful to Elena A. Portnaya and to Raisa L. Bakulina, leading engineer, for their assistance in conducting the research.

This work was financially supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Grant agreement No.075-15-2025-485).

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

Albertano P. 2012. Cyanobacterial biofilms in monuments and caves. In: Ecology of cyanobacteria II: their diversity in space and time. Dordrecht: Springer Netherlands, pp. 317–343. DOI: 10.1007/978-94-007-3855-3_11

Baele G., Ji X., Hassler G.W. et al. 2025. BEAST X for Bayesian phylogenetic, phylogeographic and phylodynamic inference. Nature Methods 22(8): 1653–1656. DOI: 10.1038/s41592-025-02751-x

Barberousse H. 2006. Etude de la diversité des algues et des cyanobactéries colonisant les revêtements de façade en France et recherche des facteurs favorisant leur implantation [Study of the diversity of algae and cyanobacteria colonizing facade coatings in France and search for factors favoring their establishment]. PhD Thesis, Museum National d'Histoire Naturelle, Paris, France. (in French)

Barido-Sottani J., Schwery O., Warnock R.C. et al. 2024. Practical guidelines for Bayesian phylogenetic inference using Markov chain Monte Carlo (MCMC). Open Research Europe 3: 204. DOI: 10.12688/openreseurope.16679.1

Cao S., Yang C., Tian H. et al. 2025. *Deuterostichococcus alpinus* sp. nov. (Chlorophyta; Trebouxiophyceae) from Antarctica. Czech Polar Reports 15(1): 38–48. DOI: 10.5817/CPR2025-1-3

Collins R.A., Cruickshank R.H. 2013. The seven deadly sins of DNA barcoding. Molecular ecology resources 13(6): 969–975. DOI: 10.1111/1755-0998.12046

Crispim C.A., Gaylarde P.M., Gaylarde C.C. 2003. Algal and cyanobacterial biofilms on calcareous historic buildings. Current Microbiology 46(2): 79–82. DOI: 10.1007/s00284-002-3815-z

Darienko T., Lukešová A., Proeschold T. 2018. The polyphasic approach revealed new species of *Chloroidium* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta). Phytotaxa 372(1): 51–66. DOI: 10.11646/phytotaxa.372.1.4

Davydov D., Vilnet A. 2022. Review of the cyanobacterial genus *Phormidesmis* (Leptolyngbyaceae) with the description of *Apatinema* gen. nov. Diversity 14(9): 731. DOI: 10.3390/d14090731

D'Orazio M., Quagliarini E. 2023. Influence of the wind driving rain on algae growth on building facades. A prediction based on neural networks. DOI: 10.2139/ssrn.4517307

Fučíková K., Rada J.C., Lewis L.A. 2011. The tangled taxonomic history of *Dictyococcus*, *Bracteacoccus* and *Pseudomuriella* (Chlorophyceae, Chlorophyta) and their distinction based on a phylogenetic perspective. Phycologia 50(4): 422–429. DOI: 10.2216/10-69.1

Galindo-Alcázar O., Medina-Jaritz N.B., Garduño-Solórzano G. et al. 2018. Cyanobacteria and microalgae from surface biofilm from Malinalco, Mexico, an archaeological site. Polibotánica 45: 131–146. DOI: 10.18387/polibotanica.45.10

Gaylarde C.C. 2020. Influence of environment on microbial colonization of historic stone buildings with emphasis on cyanobacteria. Heritage 3(4): 1469–1482. DOI: 10.3390/heritage3040081

Guiry M.D., Guiry G.M. 2025. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. URL: http://www.algaebase.org

Hoang D.T., Chernomor O., Von Haeseler A. et al. 2018. UFBoot2: improving the ultrafast bootstrap approximation. Molecular Biology and Evolution 35(2): 518–522. DOI: 10.1093/molbev/msx281

Holzinger A., Pichrtová M. 2016. Abiotic stress tolerance of charophyte green algae: new challenges for omics techniques. Frontiers in Plant Science 7: 678. DOI: 10.3389/fpls.2016.00678

Huaman Y.N.C., Villanueva R.S., Huanca O.L.C. 2025. Biopelículas de microalgas y cianobacterias, pioneras en la colonización y deterioro del monumento de Saqsaywaman [Microalgae and cyanobacteria biofilms, pioneers in the colonization and deterioration of the Saqsaywaman monument]. Ambiente, Comportamiento y Sociedad 8(1): 1–20. DOI: 10.51343/racs.v8i1.1503 (in Spanish)

Johansen J.R., Kovacik L., Casamatta D.A. et al. 2011. Utility of 16S-23S ITS sequence and secondary structure for recognition of intrageneric and intergeneric limits within cyanobacterial taxa: *Leptolyngbya corticola* sp. nov. (Pseudanabaenaceae, Cyanobacteria). Nova Hedwigia 92(3): 283. DOI: 10.1127/0029-5035/2011/0092-0283

Kala R., Pandey V.D. 2021. Biocolonization and biodeterioration of monuments by cyanobacteria. Plant Archives 21(1): 1531–1536.

Kaplan F., Lewis L.A., Wastian J. et al. 2012. Plasmolysis effects and osmotic potential of two phylogenetically distinct alpine strains of *Klebsormidium* (Streptophyta). Protoplasma 249(3): 789–804. DOI: 10.1007/s00709-011-0324-z

Katoh K., Rozewicki J., Yamada K.D. 2019. MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. Briefings in Bioinformatics 20(4): 1160–1166. DOI: 10.1093/bib/bbx108

Keshari N., Adhikary S.P. 2014. Diversity of cyanobacteria on stone monuments and building facades of India and their phylogenetic analysis. International Biodeterioration & Biodegradation 90: 45–51. DOI: 10.1016/j.ibiod.2014.01.014

Keshari N., Das S.K., Adhikary S.P. 2021. Colonization and survival of a stress tolerant cyanobacterium on a heritage monument of Santiniketan, India. International Biodeterioration & Biodegradation 164: 105294. DOI: 10.1016/j.ibiod.2021.105294

Konstantinou D., Voultsiadou E., Panteris E. et al. 2021. Revealing new sponge-associated cyanobacterial diversity: Novel genera and species. Molecular phylogenetics & evolution 155: 106991. DOI: 10.1016/j.ympev.2020.106991

Krivina E., Sinetova M., Zadneprovskaya E. et al. 2024. The genus *Coelastrella* (Chlorophyceae, Chlorophyta): molecular species delimitation, biotechnological potential, and description of a new species *Coelastrella affinis* sp. nov., based on an integrative taxonomic approach. Antonie van Leeuwenhoek 117(113): 1–23. DOI: 10.1007/s10482-024-02008-1

Lokhorst G.M. 1996. Comparative taxonomic studies on the genus *Klebsormidium* (Charophyceae) in Europe. Cryptogamie Studies 5: 1–132.

Macedo M.F., Vilarigues M.G., Coutinho M.L. 2021. Biodeterioration of glass-based historical building materials: an overview of the heritage literature from the 21st century. Applied Sciences 11(20): 9552. DOI: 10.3390/app11209552

Mikhailyuk T.I., Vinogradova O.M., Glaser K. et al. 2018. Diversity of terrestrial algae of Cape Kazantip (the Sea of Azov, Ukraine) and some remarks on their phylogeny and ecology. International Journal on Algae 20(4): 313–338. DOI: 10.1615/InterJAlgae.v20.i4.10

Mikhailyuk T., Glaser K., Holzinger A. et al. 2015. Biodiversity of *Klebsormidium* (Streptophyta) from alpine biological soil crusts (Alps, Tyrol, Austria, and Italy). Journal of Phycology 51(4): 750–767. DOI: 10.1111/jpy.12316

Minh B.Q., Schmidt H.A., Chernomor O. et al. 2020. IQ-TREE 2: new models and efficient methods for phylogenetic inference in the genomic era. Molecular Biology and Evolution 37(5): 1530–1534. DOI: 10.1093/molbev/msaa015

Nowicka-Krawczyk P., Komar M., Gutarowska B. 2022. Towards understanding the link between the deterioration of building materials and the nature of aerophytic green

algae. Science of the Total Environment 802: 149856. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.149856

Nowicka-Krawczyk P., Komar M., Gutarowska B. et al. 2025. Growth strategy of aerial green algae on building materials in the temperate climate zone and its relevance to substrate biodeterioration. Scientific Reports 16(1): 2167. DOI: 10.1038/s41598-025-31926-x

Nowicka-Krawczyk P., Komar M., Gutarowska B. et al. 2026. Assessing the potential for biogeochemical deterioration of building materials by green algae in temperate climate via an integrated metabolomic approach. Scientific Reports. DOI: 10.1038/s41598-026-58452-8

Piontek M., Lechów H. 2014. Aerophytic cyanobacteria as a factor in the biodegradation of technical materials on external building walls. Civil and Environmental Engineering Reports 13: 109–119. DOI: 10.2478/ceer-2014-0019

Proeschold T., Darienko T. 2020. The green puzzle *Stichococcus* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta): New generic and species concept among this widely distributed genus. Phytotaxa 441(2): 113–142. DOI: 10.11646/phytotaxa.441.2.2

Rambaut A., Drummond A.J., Xie D. et al. 2018. Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. Systematic Biology 67(5): 901–904. DOI: 10.1093/sysbio/syy032

Reboah P., Bolou-Bi C.B., Nowak S. et al. 2023. Influence of climatic factors on cyanobacteria and green algae development on building surface. PLOS ONE 18(3): e0282140. DOI: 10.1371/journal.pone.0282140

Rindi F., Mikhailyuk T.I., Sluiman H.J. et al. 2011. Phylogenetic relationships in *Interfilum* and *Klebsormidium* (Klebsormidiophyceae, Streptophyta) Molecular Phylogenetics and Evolution 58(2): 218–231. DOI: 10.1016/j.ympev.2010.11.030

Samad L.K., Adhikary S.P. 2008. Diversity of micro-algae and cyanobacteria on building facades and monuments in India. Algae 23(2): 91–99. DOI: 10.4490/algae.2008.23.2.091

Samolov E., Mikhailyuk T., Lukešová A. et al. 2019. Usual alga from unusual habitats: Biodiversity of *Klebsormidium* (Klebsormidiophyceae, Streptophyta) from the phylogenetic superclade G isolated from biological soil crusts. Molecular Phylogenetics and Evolution 133: 236–255. DOI: 10.1016/j.ympev.2018.12.018

Sayers E.W., Beck J., Bolton E.E. et al. 2021. Database resources of the National Center for Biotechnology Information. Nucleic Acids Research 49(D1): D10-D17.

Scheerer S., Ortega-Morales O., Gaylarde C. 2009. Microbial deterioration of stone monuments – an updated overview. Advances in Applied Microbiology 66: 97–139. DOI: 10.1016/S0065-2164(08)00805-8

Shimodaira H. 2002. An approximately unbiased test of phylogenetic tree selection. Systematic Biology 51(3): 492–508. DOI: 10.1080/10635150290069913

Shirakawa M.A., Loh K., John V.M. et al. 2012. Resistance of cyanobacterial fouling on architectural paint films to cleaning by water jet. Current Microbiology 64(4): 312–316. DOI: 10.1007/s00284-011-0072-5

Sommer V., Mikhailyuk T., Glaser K. et al. 2020. Uncovering unique green algae and cyanobacteria isolated from biocrusts in highly saline potash tailing pile habitats, using an integrative approach. Microorganisms 8(11): 1667. DOI: 10.3390/microorganisms8111667

Strunecký O., Elster J., Komárek J. 2010. Phylogenetic relationships between geographically separate *Phormidium* cyanobacteria: is there a link between north and south polar regions? Polar Biology 33(10): 1419–1428. DOI: 10.1007/s00300-010-0834-8

Tamura K., Stecher G., Kumar S. 2021. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. Molecular Biology and Evolution 38(7): 3022–3027. DOI: 10.1093/molbev/msab120

Taton A., Grubisic S., Brambilla E. et al. 2003. Cyanobacterial diversity in natural and artificial microbial mats of Lake Fryxell (McMurdo Dry Valleys, Antarctica): a morphological and molecular approach. Applied and Environmental Microbiology 69(9): 5157–5169.

Tukhtaboeva Y., Krivina E., Redkina V. et al. 2025. Species delimitation in the genus *Klebsormidium* (Klebsormidiophyceae, Charophyta), including description of *Klebsormidium mirabile* sp. nov. with high content of polyunsaturated fatty acids. PhytoKeys 266: 53. DOI: 10.3897/phytokeys.266.158514

White T.J., Bruns T., Lee S. et al. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis M.A., Gelfand D.H., Sninsky J.J., White T.J. (Eds.), PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. San Diego: Academic Press, pp. 315–322. DOI: 10.1016/b978-0-12-372180-8.50042-1

Оригинальная статья

Наземные фототрофные биопленки искусственных субстратов: разнообразие цианобактерий и микроводорослей в условиях малого города (г. Пущино)

Редькина В.В.*, Кривина Е.С., Темралеева А.Д.

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, ФИЦ ПНЦБИ РАН, Проспект науки, 5, г. Пущино, 142290, Россия

АННОТАЦИЯ. Цель работы заключалась в изучении таксономического разнообразия цианобактерий и эукариотических микроводорослей, формирующих фототрофные биопленки на искусственных субстратах в условиях малого города. В ходе исследования с различных строительных материалов (бетон, цементно-песчаная смесь, штукатурка, металл, древесина) городских зданий и сооружений было изолировано и охарактеризовано 19 штаммов фототрофных микроорганизмов. Молекулярно-филогенетический и морфологический анализы позволили охарактеризовать 5 штаммов цианобактерий и 14 штаммов микроводорослей, среди которых доминирующее положение занимают роды *Klebsormidium* и *Chloroidium*. Подтверждена субстратная специфичность фототрофов: наибольшее таксономическое богатство приурочено к пористым и влагоемким материалам (бетон), а также металлическим поверхностям. Особый интерес представляют два штамма – *Leptolyngbya* sp. VKM Al-382 и *Cymatolege* sp. VKM Al-383, являющиеся кандидатами в новые для науки виды. Впервые представитель рода *Cymatolege*, ранее известного исключительно как ассоциированный симбионт морских губок, выявлен в наземном биотопе на антропогенном субстрате, что существенно расширяет знания об экологической пластичности данной группы. Все полученные культуры депонированы в коллекцию микроорганизмов, что создает базу для дальнейших фундаментальных и прикладных исследований в области биокоррозии и разработки методов биозащиты строительных материалов.

Ключевые слова: филогения, 16S рРНК, 16S-23S ITS, ITS2, *rbc*L, Всероссийская коллекция микроорганизмов

Для цитирования: Редькина В.В., Кривина Е.С., Темралеева А.Д. Наземные фототрофные биопленки искусственных субстратов: разнообразие цианобактерий и микроводорослей в условиях малого города (г. Пущино) // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - С. 437-469. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-437

1. Введение

Поверхности городских зданий и сооружений, выполненные из различных строительных материалов (бетона, натурального камня, штукатурки и даже стекла), представляют собой специфические экосистемы, подверженные постоянному воздействию абиотических и биотических факторов (Macedo et al., 2021; Nowicka-Krawczyk et al., 2022; Huaman et al., 2025). Первичными колонизаторами этих инертных субстратов выступают фототрофные микроорганизмы – цианобактерии и эукариотические микроводоросли, которые за счет фотосинтеза формируют органическую базу для последующего заселения гетеротрофными бактериями и грибами (Crispim et al., 2003; Albertano, 2012; Keshari et al., 2021).

Таксономический состав и доминирование фототрофов в биопленках детерминированы климатическими условиями и природой субстрата. Установлено, что в регионах с умеренным климатом на фасадах чаще доминируют эукариотические зеленые водоросли, тогда как в тропических и субтропических зонах, а также на поверхностях, подверженных экстремальной инсоляции и высыханию, доминантами выступают цианобактерии (Crispim et al., 2003; Barberousse, 2006; Samad and Adhikary, 2008; Gaylarde, 2020). При этом пористость и влагоудерживающая способность материала (например, разница между цементными растворами и извест-

*Автор для переписки. Адрес e-mail: kalmykova_v_v@mail.ru (В.В. Редькина)

Поступила: 02 июля 2026;
Принята после доработки: 30 июля 2026;
Опубликована online: 28 августа 2026

© Автор(ы) 2026. Эта работа распространяется под международной лицензией Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.

няком) напрямую влияют на преобладание нитчатых или коккоидных форм, а также на соотношение водорослей и цианобактерий (Crispim et al., 2003; Reboah et al., 2023).

Выживание фототрофов на открытых фасадах требует специализированных адаптаций к УФ-радиации, перепадам температур и длительному обезвоживанию (Albertano, 2012; Kala and Pandey, 2021; Keshari et al., 2021). Для защиты от ультрафиолета многие цианобактерии синтезируют экранирующие пигменты, такие как сцитонемин и микоспорин-подобные аминокислоты (Albertano, 2012; Keshari and Adhikary, 2014; Gaylarde, 2020). Ключевую роль в адаптации к засухе и адгезии к субстрату играет синтез внеклеточных полимерных веществ (EPS). EPS формируют защитный матрикс биопленки, удерживают влагу, создавая локальный микроклимат, и обеспечивают прочное прикрепление клеток к минеральной матрице (Piontek and Lechów, 2014; Galindo-Alcázar et al., 2018; Kala and Pandey, 2021; Huaman et al., 2025).

Колонизация фототрофами приводит к двум основным типам повреждений: эстетическим и структурным. Эстетическая деградация проявляется в виде изменения цвета фасадов (появление зеленых, черных, красных или коричневых пятен) из-за наличия фотосинтетических пигментов, каротиноидов и сцитонемина (Shirakawa et al., 2012; Gaylarde, 2020; Keshari et al., 2021). Структурное повреждение обусловлено как физическим давлением, возникающим при циклическом набухании и сокращении матрикса EPS во время циклов увлажнения – высыхания, так и биохимическим воздействием: секрецией органических кислот и хелатирующих агентов, которые растворяют минеральную матрицу субстрата (Scheerer et al., 2009; Piontek and Lechów, 2014; Nowicka-Krawczyk et al., 2022; Huaman et al., 2025).

Несмотря на то, что исторически исследования фокусировались преимущественно на объектах культурного наследия (Scheerer et al., 2009; Albertano, 2012), проблема колонизации фасадов современных городских зданий приобретает не меньшую экономическую, эстетическую и практическую значимость (D'Orazio and Quagliarini, 2023; Reboah et al., 2023).

Актуальность исследования обуславливает цель данной работы – изучить разнообразие цианобактерий и водорослей в фототрофных биопленках искусственных субстратов в условиях малого города (г. Пущино).

2. Материалы и методы исследования

2.1. Пробоотбор

Для исследования в мае 2022 г. были стерильно отобраны образцы визуально заметных фототрофных биоплёнок, формирующихся на различных искусственных субстратах, в г. Пущино Московской области (54°50' N 37°37' E): поверхности бетонного цоколя и ступеней (4 пробы), кирпичной стены (2), металлических (3) и деревянных (1) столбов (Рис. 1).

Рис.1. Места отбора образцов биопленок. А – ступеньки подъезда; Б – оштукатуренный цоколь жилого дома; В – кирпичная стена, шов; Г – низ металлической опоры козырька; Д – металлическая опора козырька; Е – деревянная опора козырька.

2.2. Выделение, культивирование и очистка штаммов

Образцы биопленок были посеяны на твердую питательную среду BG11 с азотом и без и многократно пересеяны до получения альгологически чистых культур. Культивирование штаммов осуществлялось в климатостате КС-200 (Смоленское СКТБ СПУ, Россия) при стандартных условиях (температура +23°C, свет 60–75 μмоль фотонов $м^{-2}$ $с^{-1}$, фотопериод 12 ч). Все изученные штаммы были депонированы в Альгологическую коллекцию ACSSI (ИФХиБПП РАН, г. Пущино), а затем переданы во Всероссийскую коллекцию микроорганизмов (ВКМ, ИБФМ РАН, г. Пущино).

2.3. Морфологический анализ

Образцы биопленок изучали в день пробоотбора с помощью светового микроскопа Leica DM750 (Германия). Наблюдение морфологических признаков и жизненных циклов штаммов, выделенных из биоплёнок, проводили на микроскопе Carl Zeiss Axio Scope A1 (Германия) в ЦКП ИФХиБПП с помощью интерференционно-контрастной микроскопии. Результаты были задокументированы фотографиями, снятыми с помощью цветной цифровой камеры Carl Zeiss MRc 5 (Германия). Сроки наблюдения составляли от 2 недель до 6 месяцев (столь длительный срок связан с медленным ростом цианобактериальных культур). При морфологической идентификации штаммов цианобактерий учитывали следующие признаки: организацию таллома, присутствие слизи и ее цвет, наличие акинет и гетероцит, размер и форму вегетативных клеток и др. В случае эукариотических водорослей отмечали: тип организации таллома, форму и размеры клеток, наличие и толщину слизистых оболочек, количество и тип хлоропластов, наличие пиреноида и структуру крахмальной обвертки, способы размножения и др. Для оценки размеров клеток проводили не менее 100 измерений. За основу в данной работе выбрана классификация водорослей, приведенная в Международной электронной базе данных AlgaeBase (Guiry and Guiry, 2025).

2.4. Экстракция ДНК, амплификация, секвенирование

Выделение тотальной ДНК осуществляли с помощью колоночного набора DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, США), следуя протоколу производителя. Для амплификации использовали готовую смесь для ПЦР Screen Mix-HS (Евроген, Россия). Праймеры и условия для амплификации гена 16S рРНК и спейсера 16S-23S ITS для цианобактерий (Taton et al., 2003; Strunecký et al., 2010), ITS2 для зеленых микроводорослей (White et al., 1990) и *rbc*L для харофитовых водорослей указаны в Таблице 1. Детекцию целевых ПЦР-продуктов проводили электрофоретически в 1%-ном агарозном геле (краситель SYBR Safe). Для дальнейшей очистки ампликонов из геля использовали набор Cleanup S-Cap (Евроген, Россия). Секвенирование нуклеотидных последовательностей осуществляли на базе ЗАО Евроген (Россия).

2.5. Молекулярно-филогенетический анализ

Редактирование и сборку консенсусной последовательности проводили с помощью визуального сопоставления прямой и обратной хроматограмм в программе BioEdit. Для молекулярно-генетической идентификации штаммов цианобактерий и микроводорослей был осуществлен поиск гомологии нуклеотидных последовательностей исследуемых маркеров по алгоритму BLASTn в GenBank NCBI (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov) (Sayers et al., 2021). Отбор последовательностей осуществляли исходя из критериев максимального родства, качества прочтения (без вырожденных и неизвестных нуклеотидов), длины прочтения и принадлежности к типовым видам и коллекционным аутентичным штаммам.

Таблица 1. Праймеры и условия амплификации целевых генов и спейсеров.

Маркер	Праймеры	Условия
16S рРНК + ITS	27F: AGAGTTTGATCMTGGCTCAG 359F*: GGGGGATTTTCCGCAATGGG 1407F*: TGTACACACCGCCCGTC	94°C – 5 мин; 94°C – 30 сек; 55°C – 30 сек; 72°C – 3 мин, 40 циклов; 72°C – 7 мин.
	781R*: GACTACTGGGGTATCTAATCCCATT 1467R*: AAGGAGGTGATCCAGCCACA 23S30R: CTTCGCCTCTGTGTGCCTAGGT	
ITS2	ITS3F: GCATCGATGAAGAACGCAGC ITS4R: TCCTCCGCTTATTGATATGC	95°C – 3 мин.; 95°C – 30 сек; 57.6°C – 30 сек; 72°C – 1 мин, 35 циклов; 72°C – 10 мин.
*rbc*L	KF2: ACTTACTACACTCCTGATTATGA	95°C – 2 мин.; 94°C – 1 мин; 47°C – 1 мин; 72°C – 3 мин, 40 циклов; 72°C – 8 мин.
	KR2: GGTTGCCTTCGCGAGCTA	

Примечание: * отмечены внутренние секвенирующие праймеры.

Множественное выравнивание было выполнено в программе MAFFT ver. 7 (Katoh et al., 2019). Выбор нуклеотидных замен осуществляли с помощью программы IQ-TREE v. 2.2 (Minh et al., 2020), ориентируясь на минимальное значение BIC критерия (Bayesian information criterion) (Hoang et al., 2018). Оценка топологии ветвей с помощью теста SH-aLRT была реализована в блоке построения филогенетического дерева uGENE (Shimodaira, 2002). Реконструкцию филогенетических взаимосвязей с помощью метода максимального правдоподобия (ML) осуществляли в программе IQ-TREE v. 2.2. Для построения филогенетических деревьев методом Байеса (BI – Bayesian Inference) была использована программа BEAST v10.5.0 (Baele et al., 2025) в соответствии с рекомендациями Barido-Sottani с соавт. (2024). В качестве модели молекулярных часов использовались некоррелированные расслабленные часы (uncorrelated relaxed clock) с логнормальным распределением скоростей замен по ветвям, в качестве популяционной модели – модель «рождения-гибели видов» (Birth-Death Process). Анализ проводился с использованием метода марковских цепей Монте-Карло (MCMC). Запуск производился на 100 млн. итераций для каждой исследуемой группы микроорганизмов. Сэмплирование параметров и деревьев выполнялось каждые 10 000 итераций после отбрасывания первых 25% поколений в качестве burn-in. Сходимость запусков и достаточная выборка были проверены в программе Tracer v1.7. (Rambaut et al., 2018), обеспечивая достижение всеми параметрами эффективного размера выборки (ESS) > 200. Филогенетические деревья были визуализированы в программе FigTree v. 1.3.1. В качестве статистической поддержки узлов дерева указаны значения SH-aLRT (SH-aLRT – Shimodaira-Hasegawa-like approximate likelihood ratio test), бутстреп ML (BP – bootstrap percentages) и апостериорных вероятностей BI (PP – posterior probabilities). Различия между нуклеотидными последовательностями охарактеризовали с помощью генетических дистанций, мерой которых являлся процент несовпадений нуклеотидов при попарном сравнении выравненных последовательностей, рассчитанный в программе MEGA 11 (Tamura et al., 2021). При этом учитывали, что пороги генетических дистанций не являются универсальными для различных таксонов, а являются производными от топологии дерева, параметров эволюционной модели, таксономического состава, полноты и репрезентативности конкретного набора последовательностей (Collins and Cruickshank, 2013). Предсказание вторичной структуры консервативных шпилек D1-D1' и BoxB спейсера ITS 16S–23S осуществляли с использованием сервиса RNAfold (http://rna.tbi.univie.ac.at//cgi-bin/RNAWebSuite/RNAfold.cgi, дата обращения 20 июня 2026).

3. Результаты и обсуждение

В результате выполненных работ было изолировано 19 штаммов цианобактерий и микроводорослей (Таблица 2, Рис. 2).

3.1. Цианобактерии

Цианобактерии были представлены 5 штаммами из трех порядков – Leptolyngbyales, Nodosilineales и Oscillatoriales.

Штамм **VKM Al-380** характеризуется следующими морфологическими признаками: нити длинные, волнистые, 3–4.3 мкм шириной, в тонких бесцветных слизистых чехлах (Рис. 2А). Иногда наблюдается ложное ветвление. Трихомы оливково-зеленого цвета, 2–2.9 мкм шириной, изополярны или слегка гетерополярны (в более старых культурах), сужены у поперечных перегородок. Клетки от очень коротких (от 1 мкм) до изодиаметрических, апикальная клетка закруглена. Изредка встречаются некридиальные клетки.

На 16S рРНК дереве штамм кластеризуется с представителями клады *Leptolyngbya sensu stricto* с высокой статистической поддержкой (Рис. 3). Генетические дистанции между VKM Al-380 и аутентичными штаммами разных видов внутри клады составляют 0.4–1.1%. Этот уровень соответствует межвидовому для этой клады, поскольку дистанции между аутентичными штаммами видов *L. boryana, L. corticola, L. tenerrima* и *L. angustata* варьируют в диапазоне 0.1–0.9%. Вторичная структура шпильки D1-D1' спейсера 16S-23S ITS штамма VKM Al-380 полностью идентична структуре *L. corticola* (Рис. 4) и отличается от *L. boryana* и *L. tenerrima* нуклеотидным составом концевой петли. Вторичная структура шпильки boxB штамма VKM Al-380 уникальна по сравнению с уже описанными видами рода *Leptolyngbya* (Рис. 5).

Морфология штамма VKM Al-380 наиболее близка к описанию *L. corticola* (Johansen et al., 2011) по ряду признаков: толщина трихомов, их некоторая гетерополярность в стареющих культурах, а также наличие некридиальных клеток. Однако значения генетических дистанций, топология дерева 16S рРНК и уникальность вторичной структуры шпильки boxB спейсера 16S-23S ITS не позволяют с уверенностью утверждать, что наш штамм является представителем данного вида. Поэтому мы идентифицируем VKM Al-380 как *Leptolyngbya* sp.

Штамм **VKM Al-382** входит в сестринскую группу на дереве 16S рРНК (Рис. 3). Для штамма характерны прямые или изогнутые нити 2.3–2.6 мкм шириной, в очень тонких, почти незаметных, бесцветных слизистых чехлах, без ветвлений (Рис. 2Б). Трихомы оливково-зеленого цвета, 2–2.4 мкм шириной, изополярные, сужены у поперечных перегородок. Клетки изодиаметрические или длина клеток слегка меньше/больше ширины. Апикальная клетка конусовидная с закругленным концом. Некридиальные клетки не наблюдали.

Между видами рода *Leptolyngbya*, не входящими в кладу *Leptolyngbya sensu stricto*, – *L. alkalina, L. koreana, L. vaporiphila, L. terrestris, L. salina* и *L. hodgsonii*, генетические дистанции варьируют в диапазоне 1.4–7%. Дистанции между штаммом VKM Al-382 и перечисленными видами составляют 3.0–5.9%, т.е. соответствуют межвидовым. Таким образом, VKM Al-382 является кандидатом в новый, нео-

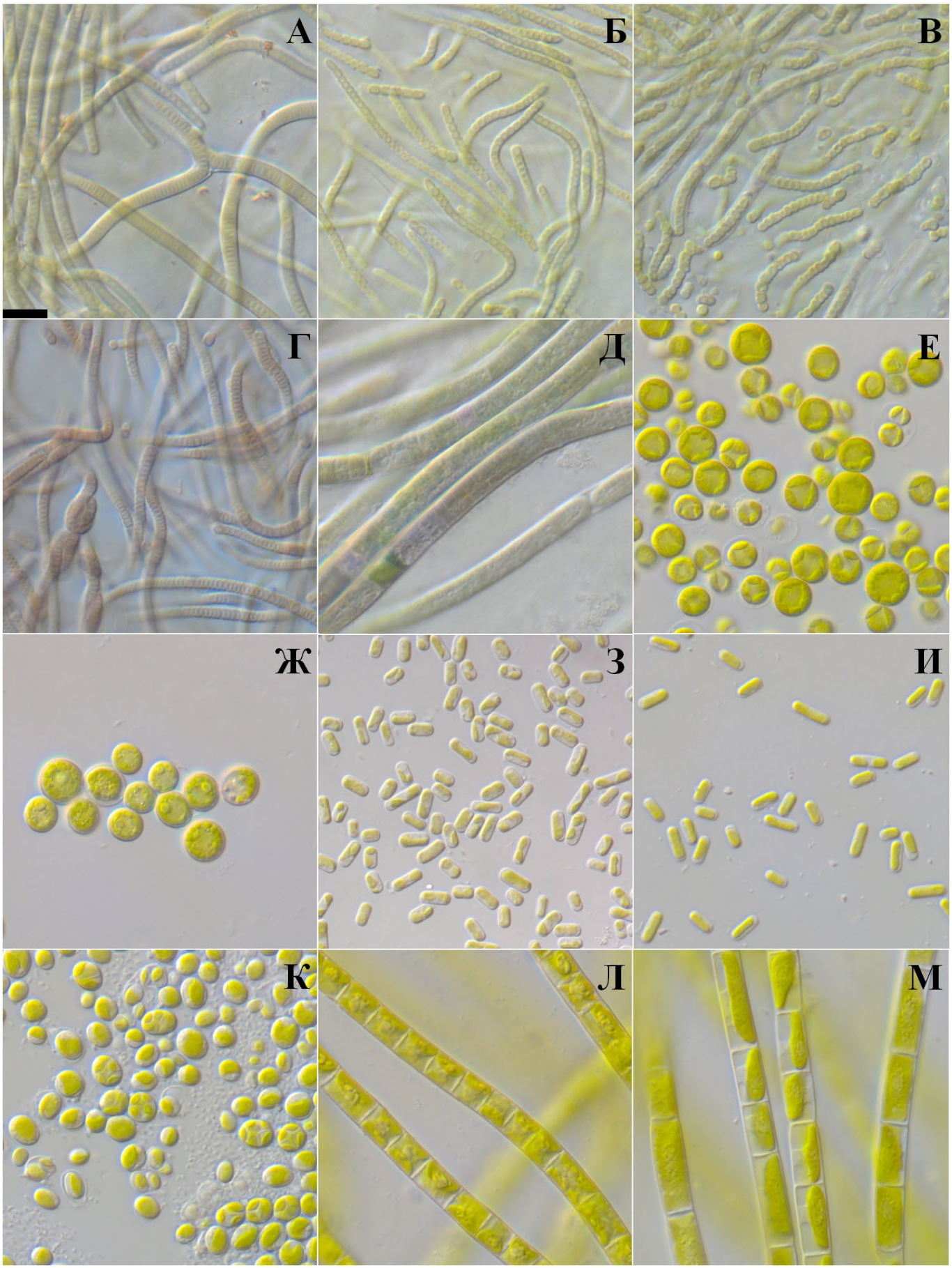


Рис.2. Микрофотографии штаммов цианобактерий и эукариотических микроводорослей, изолированных из биопленок на искусственных субстратах города Пущино. А – *Leptolyngbya* sp. VKM Al-380; Б – *Leptolyngbya* sp. VKM Al-382; В – *Phormidesmis priestleyi* VKM Al-385; Г – *Cymatolege* sp. VKM Al-383; Д – *Microcoleus autumnalis* VKM Al-384; Е – *Pseudomuriella schumacherensis* VKM Al-399; Ж – *Coelastrella affinis* VKM Al-567; З – *Tritostichococcus corticola* VKM Al-401; И – *Deuterostichococcus alpinus* VKM Al-411; К – *Chloroidium saccharophilum* VKM Al-406; Л – *Klebsormidium flaccidum* VKM Al-402; М – *Klebsormidium mirabile* VKM Al-409. Шкала, обозначенная на фотографии А, является общей для всех фотографий и равна 10 мкм.

Таблица 2. Штаммы цианобактерий и эукариотических микроводорослей, изолированные из биопленок на искусственных субстратах города Пущино.

№	Таксон	Коллекционный штамм, VKM Al-	Место изоляции, субстрат
Отдел Cyanobacteriophyta класс Cyanophyceae порядок Leptolyngbyales			
1	*Leptolyngbya* sp.	380	Цоколь дома, мкр. Г, д. 26, 1 подъезд, материал - бетон
2	*Leptolyngbya* sp.	382	Цоколь дома, мкр. Г, д. 26, 1 подъезд, материал - бетон
3	*Phormidesmis priestleyi*	385	Низ металлической опоры козырька, мкр. Г, д. 6, 2 подъезд (Рис. 1Г), материал - металл
порядок Nodosilineales			
4	*Cymatolege* sp.	383	Ступеньки, мкр. Г, д. 28, 1 подъезд (Рис. 1А), материал - бетон
порядок Oscillatoriales			
5	*Microcoleus autumnal*is	384	Низ металлической опоры козырька, мкр. Г, д. 6, 2 подъезд, материал - металл
Отдел Chlorophyta класс Trebouxiophyceae порядок Prasiolales			
6	*Tritostichococcus corticola*	401	Ступеньки, мкр. Г, д. 28, 1 подъезд, материал - бетон
7	*Deuterostichococcus* alpinus	411	Деревянная опора козырька, БТИ (Рис. 1Е), материал - дерево
порядок Watanabeales			
8	*Chloroidium saccharophilum*	400	Ступеньки, мкр. Г, д. 28, 1 подъезд, материал - бетон
9	*Chloroidium saccharophilum*	406	Металлическая опора козырька, БТИ (Рис. 1Д), материал - металл
10	*Chloroidium saccharophilum*	407	Ступеньки, мкр. Г, д. 28, 1 подъезд, материал - бетон
класс Chlorophyceae порядок Sphaeropleales			
11	*Pseudomuriella schumacherensis*	399	Ступеньки, мкр. Г, д. 28, 1 подъезд, материал - бетон
12	*Pseudomuriella schumacherensis*	404	Низ металлической опоры козырька, мкр. Г, д. 6, 2 подъезд, материал - металл
13	*Coelastrella* affinis	567	Кирпичная стена, шов, мкр. АБ (Рис. 1В), материал – цементно-песчаная смесь
Отдел Charophyta класс Klebsormidiophyceae порядок Klebsormidiales			
14	*Klebsormidium flaccidum*	402	Оштукатуренный цоколь, мкр. Г, д. 7, 1 подъезд (Рис. 1Б), материал – штукатурка
15	*Klebsormidium flaccidum*	403	Низ металлической опоры козырька, мкр. Г, д. 6, 2 подъезд, материал - металл
16	*Klebsormidium flaccidum*	405	Низ металлической опоры козырька, мкр. Г, д. 5, 2 подъезд, материал - металл
17	*Klebsormidium mirabile*	398	Цоколь дома, мкр. Г, д. 26, 1 подъезд, материал - бетон
18	*Klebsormidium mirabile*	409	Клуб «Резонанс», цоколь, мкр. Д, д. 20А, материал - бетон
19	*Klebsormidium mirabile*	410	Клуб «Резонанс», цоколь, мкр. Д, д. 20А, материал - бетон

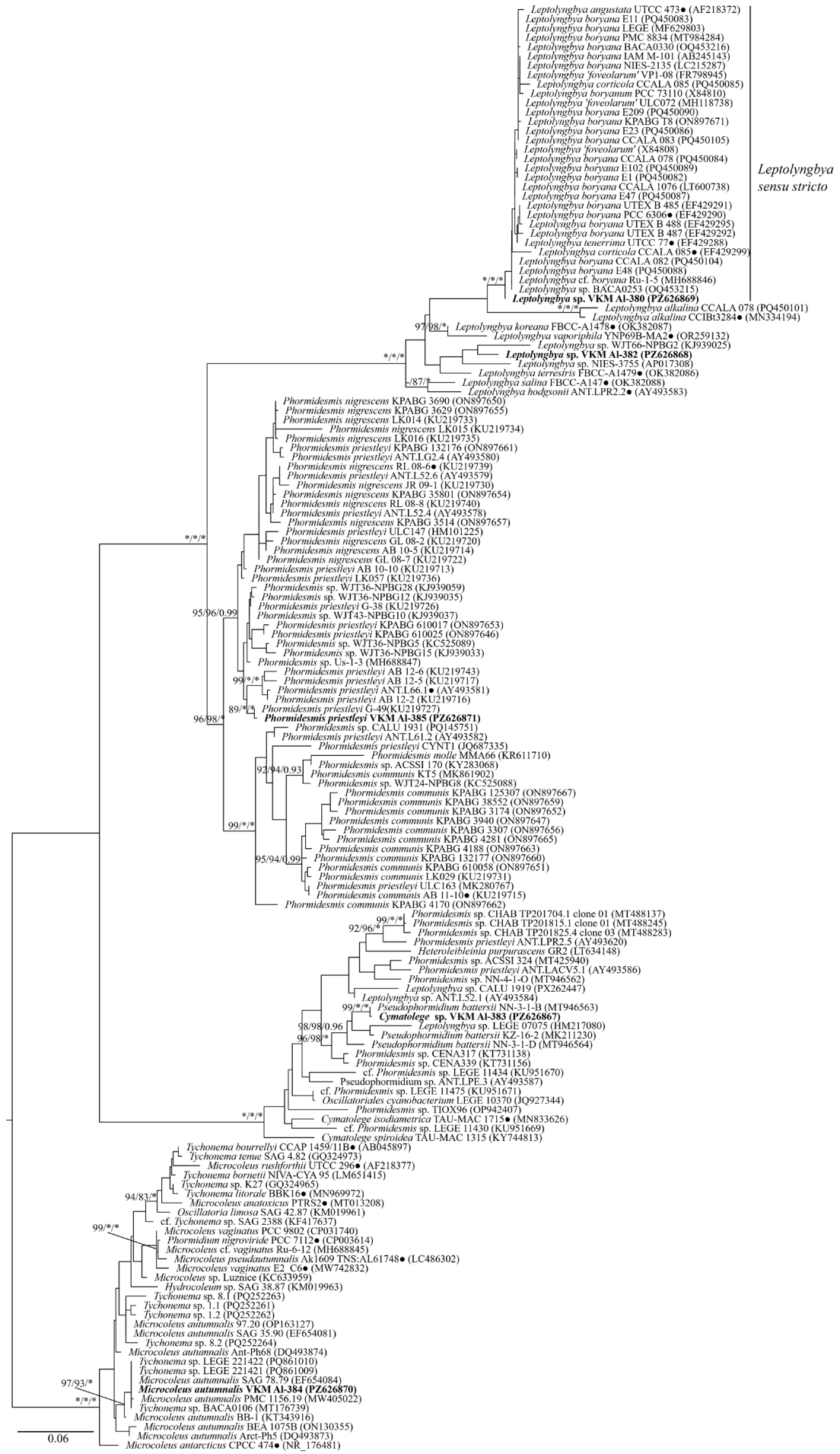


Рис.3. Филогенетическое дерево цианобактерий, построенное на основе анализа последовательностей гена 16S рРНК. Значения SH-aLRT, BP менее 90%, PP менее 0.95 не указаны. Модель нуклеотидных замен GTR + I + G. Аутентичные штаммы таксономически признанных видов обозначены черной точкой. Полужирным шрифтом выделены штаммы, исследуемые в рамках данной работы.

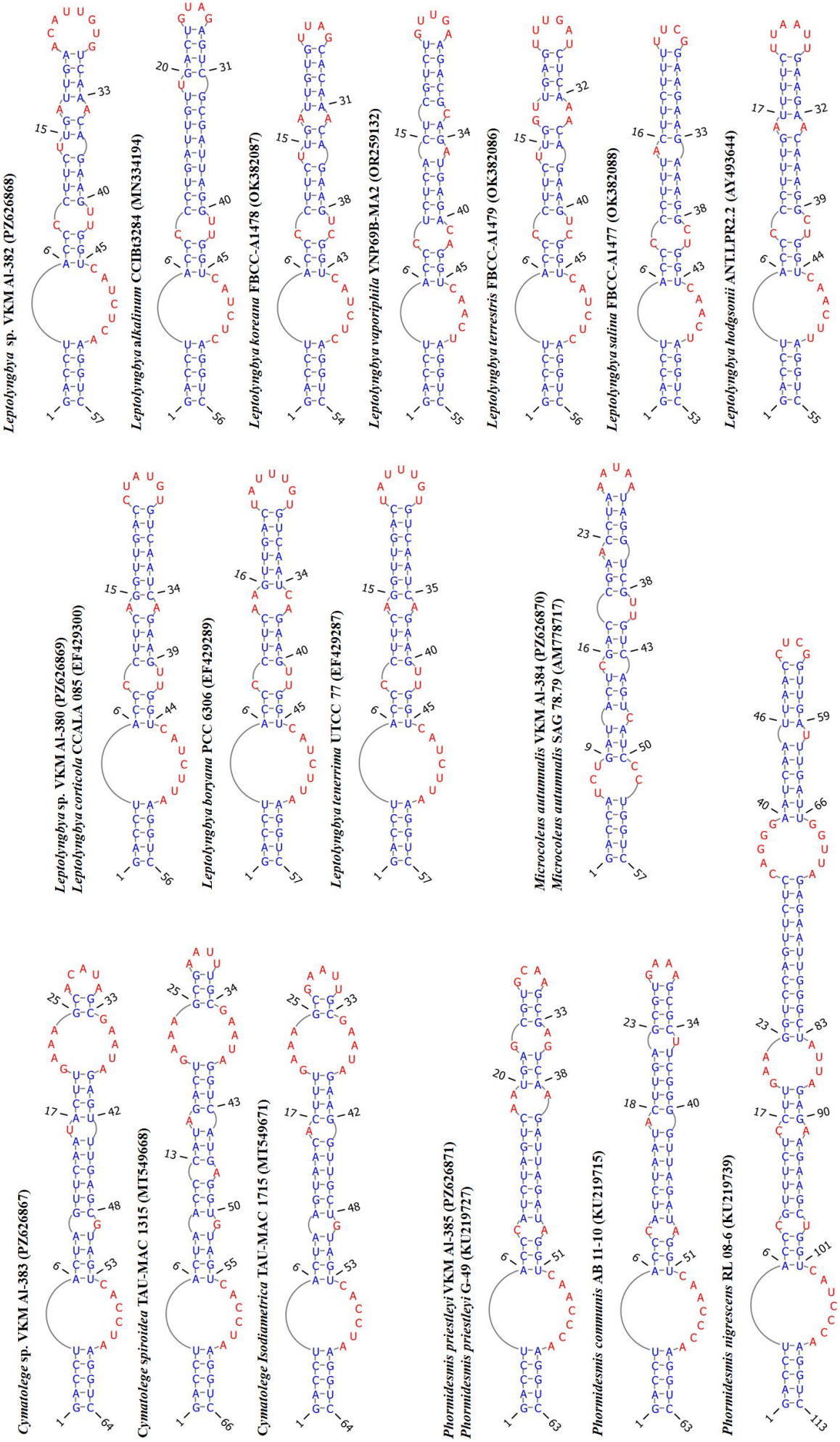


Рис.4. Вторичная структура шпильки D1-D1' спейсера 16S–23S ITS.

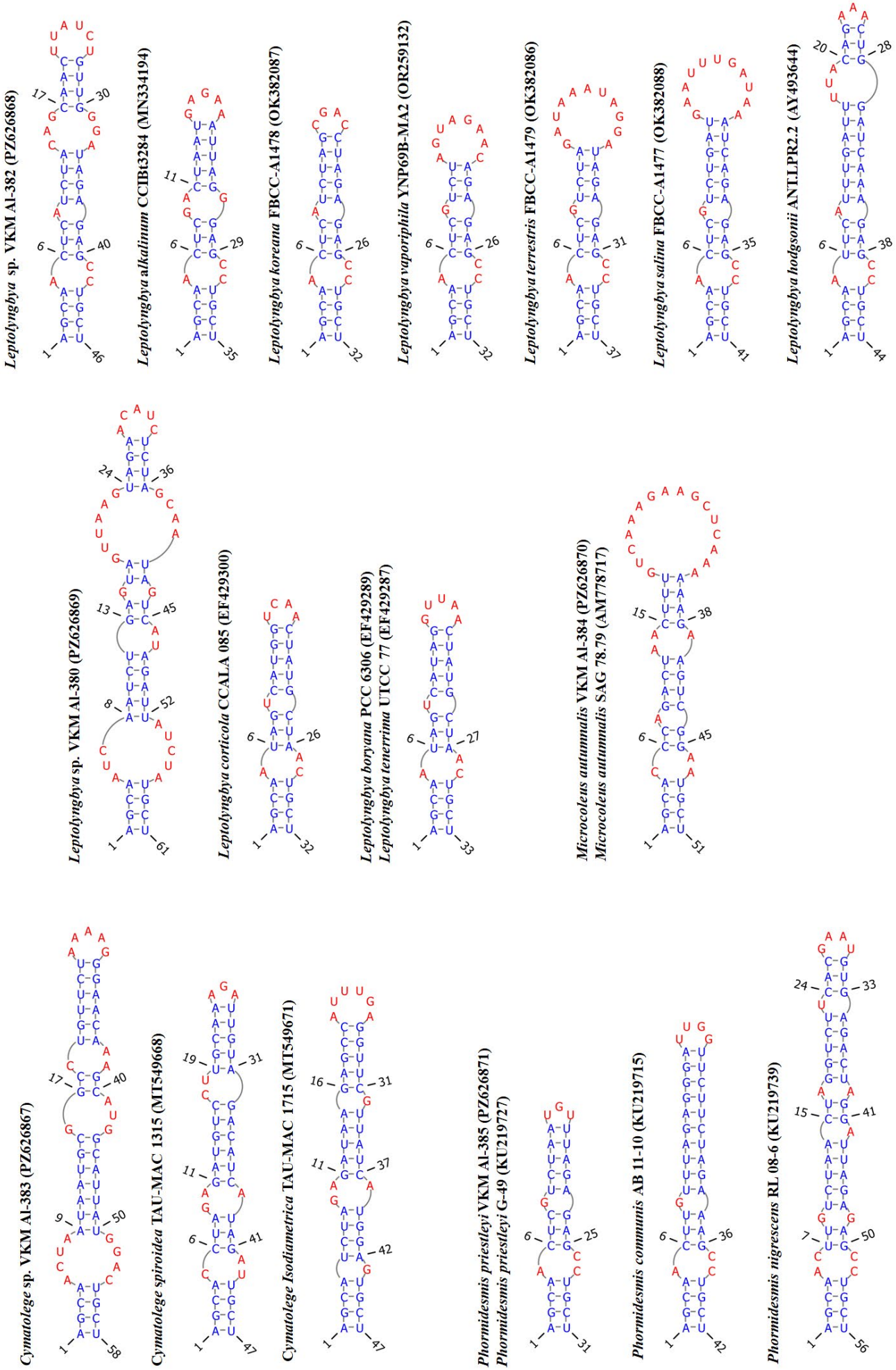


Рис.5. Вторичная структура шпильки boxB спейсера 16S–23S ITS.

писанный вид цианобактерий, и пока обозначен как *Leptolyngbya* sp.

Штамм **VKM Al-385** имеет следующие морфологические признаки: нити длинные, прямые или изогнутые, 4–5 мкм шириной (Рис. 2В). Изредка наблюдается ложное ветвление. Слизистые чехлы почти бесцветные в молодых культурах и темно-серые в старых. Трихомы оливково-зеленого цвета, 2.3–2.7 мкм шириной, сужены у поперечных перегородок, могут спирально закручиваться внутри чехла. Клетки бочонковидной формы, изодиаметрические или длина клеток меньше их ширины. Апикальная клетка закруглена. Некридиальные клетки не наблюдали.

На дереве 16S рРНК штамм вошел в группу, объединяющую представителей двух видов – *Phormidesmis priestleyi* и *P. nigrescens,* и с высокой статистической поддержкой кластеризовался с *P. priestleyi* G-49 (Рис. 3). Генетическая дистанция между VKM Al-385 и G-49 составила всего 0.1%, с аутентичным *P. nigrescens* RL 08-6 – 1.6%, а с *P. priestleyi* ANT.L66.1, предложенным в качестве референсного для вида *P. priestleyi* (Davydov and Vilnet, 2022) – 1.3%. Вторичная структура шпилек D1-D1' и boxB спейсера 16S-23S ITS нашего штамма полностью идентична структуре *P. priestleyi* G-49 (Рис. 4, 5). Поскольку штамм *P. priestleyi* G-49 отнесен к этому виду на основании результатов недавних подробных исследований (Davydov and Vilnet, 2022), штамм VKM Al-385 также был идентифицирован как *Phormidesmis priestleyi*.

Штамм **VKM Al-383** имел необычный фенотип. Нити длинные, прямые или изогнутые, изредка ложно разветвленные, 2.7–3.6 мкм шириной (Рис. 2Г). Оболочки тонкие, бесцветные, содержащие один (изредка более) трихом. Трихомы розоватые, слегка суженные у поперечных стенок, 2.4–3.3 мкм шириной, в некоторых местах спирально закручены, образуя узелки. Длина клеток (от 1 мкм) меньше их ширины, на концах трихомов округлые. Присутствуют некридиальные клетки.

На дереве 16S рРНК данный штамм группируется со штаммами, обозначенными как '*Pseudophormidium*' *battersii* (Рис. 3), обнаруженными в засоленных местообитаниях (Mikhailyuk et al., 2018; Sommer et al., 2020). Их таксономический статус не определен и нуждается в ревизии (Sommer et al., 2020). В свою очередь эти штаммы с максимальной статистической поддержкой формируют единую кладу с представителями недавно описанного рода *Cymatolege*. Интересно, что два описанных вида *C. spiroidea* и *C. isodiametrica* были обнаружены в морских местообитаниях в ассоциациях с губками и имели ярко-розовую окраску (Konstantinou et al., 2021). Генетические дистанции между VKM Al-383 и аутентичными штаммами *C. spiroidea* и *C. isodiametrica* равны 4.2 и 2.7% соответственно, а между описанными видами – 3.3%. Вторичная структура шпилек D1-D1' и boxB спейсера 16S-23S ITS нашего штамма и двух описанных видов отличаются между собой (Рис. 4, 5). Таким образом, штамм VKM Al-383 в кластере, соответствующем роду, является отдельной филогенетической линией и, вероятно, представляет собой новый вид рода *Cymatolege*.

Штамм **VKM Al-384** морфологически схож с представителями рода *Microcoleus* и характеризуется следующими признаками: нити шириной 6.2–9.0 мкм с бесцветными слизистыми чехлами (Рис. 2Д). Трихомы оливково-зеленого цвета, 5–6.8 мкм шириной, не имеют сужений у поперечных стенок, способны к скользящему движению. Длина клеток меньше их ширины. Терминальная клетка с калиптрой. Присутствуют некридиальные клетки.

На дереве 16S рРНК штамм с высокой поддержкой группировался с *Microcoleus autumnalis* SAG 78.79 (Рис. 3). Генетические дистанции между ними отсутствовали. Вторичная структура шпилек D1-D1' и boxB спейсера 16S-23S ITS обоих штаммов идентична (Рис. 4, 5). Эти штаммы в свою очередь являются частью крупной клады, включающей аутентичный штамм *M. vaginatus* E2_C6 и представителей других видов рода *Microcoleus*. Таким образом, на данный момент мы идентифицируем VKM Al-384 как *Microcoleus autumnalis*.

Эукариотические водоросли были представлены 14 штаммами из двух отделов – Chlorophyta (классы *Trebouxiophyceae* и *Chlorophyceae*) и Charophyta (класс *Klebsormidiophyceae*).

3.2. Зеленые водоросли

Штамм **VKM Al-411** имел типичный морфотип рода *Stichococcus* (Proeschold and Darienko, 2020) (Рис. 2И). Клетки одиночные или в псевдонитях по 2–3 клетки, 5.3–9 × 2.4–3.2 мкм. Отношение длины к ширине 2.2–3. Хлоропласт один, пристенный, без пиреноида. Размножение путём деления клеток.

VKM Al-411 вошел в кладу с представителями рода *Deuterostichococcus* (Рис. 6) и кластеризовался с аутентичным штаммом *D. alpinus* FACHB-2327 (SH-aLRT – 95%, BP – 97%, PP – 0.99), при этом и генетическая дистанция составляли 1.7% (внутривидовой уровень). Для сравнения уровень генетических различий между *D. epilithicus* и *D. alpinus* – 17.8–18.1%.

Наш штамм несколько отличается от описанного недавно *D. alpinus* (Cao et al., 2025) меньшими размерами клеток и отсутствием пиреноида по данным световой микроскопии. Однако размеры клеток могут варьировать в зависимости от возраста культуры и особенностей культивирования, а для подтверждения наличия/отсутствия пиреноида необходимо провести электронную микроскопию. Таким образом, мы идентифицируем штамм VKM Al-411 как *D. alpinus*.

Близкую морфологию имел штамм **VKM Al-401** (Рис. 2З). Клетки одиночные, 4–8 (17) × 2.4–3.5 мкм. Отношение длины к ширине 2–2.6. Хлоропласт один, пристенный, без пиреноида. Размножение путём деления клеток.

Согласно филогенетическому анализу, штамм VKM Al-401 принадлежал к виду *Tritostichococcus corticola* (Рис. 6), поскольку кластеризовался с аутен-

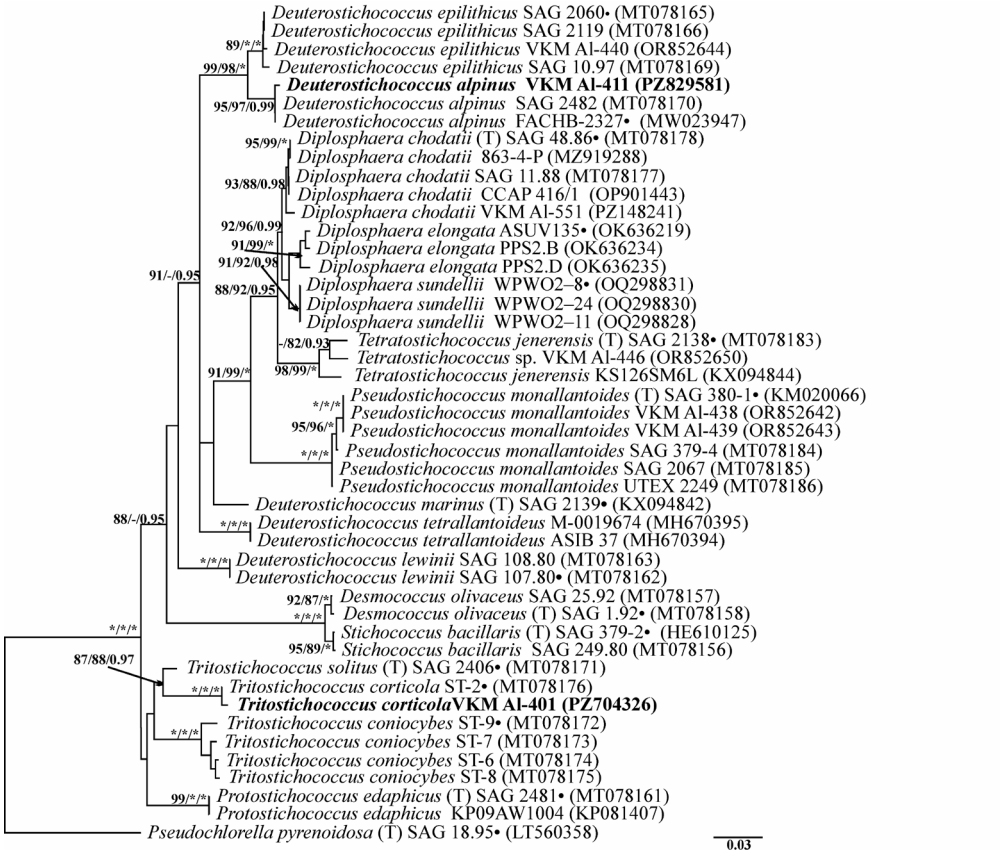


Рис.6. Укорененное филогенетическое дерево зеленых водорослей клады *Stichococcus*, построенное на основе последовательностей внутреннего транскрибируемого спейсера ITS2 (376 н.). В качестве статистической поддержки узлов дерева указаны значения SH-aLRT/BP/PP. Значения SH-aLRT и BP менее 80%, PP менее 0.8 не указаны. Модель нуклеотидных замен: TPM2u + F + I + G4. Обозначения: • – аутентичные штаммы; (T) – типовой вид, * – максимальная статистическая поддержка. Полужирным шрифтом выделены исследуемые штаммы ВКМ.

тичным штаммом ST-2, а уровень генетических различий составил 3.1% и соответствовал внутривидовому уровню (межвидовые дистанции варьировали в диапазоне 25.3–36.9%). Хотя при этом, как и в предыдущем случае, отличался от описанного вида (Pröschold and Darienko, 2020) несколько меньшими размерами клеток и отсутствием пиреноида по данным световой микроскопии.

Штаммы **VKM Al-400**, **406** и **407** были морфологически схожи с зелеными микроводорослями рода *Chloroidium* (Darienko et al., 2018) (Рис. 2K). Клетки одиночные, широкоэллипсоидной или почти шаровидной формы, 7.8 – 8.5 × 5.0 – 6.5 мкм. Хлоропласт один, пристенный, иногда слаболопастной. Пиреноид голый, слабозаметный. Размножение 2–4–8 автоспорами.

Согласно результатам анализа внутреннего транскрибируемого спейсера ITS2 штаммы VKM Al-400, VKM Al-406, VKM Al-407 относились к роду *Chloroidium* и кластеризовались с аутентичным штаммом *C. saccharophilum* SAG 2149 с высокими статистическими поддержками (SH-aLRT – 96%, BP – 95%, PP – 1.00) (Рис. 7). Уровень генетических различий между данными штаммами ВКМ составил 0–0.5%, между ними и SAG 2149 – от 0.5% до 0.9%, что соответствует внутривидовому уровню. Для сравнения генетические дистанции между штаммами *C. ellipsoideum* и *C. pseudoellipsoideum* – 1.9%, *C. pseudoellipsoideum* и *C. lichinum* – 3.4%. Таким образом, мы идентифицируем штаммы как *C. saccharophilum.*

Штаммы **VKM Al-399** и **VKM Al-404** на основе морфологических признаков первоначально были идентифицированы как *Bracteacoccus* sp. (Рис. 2E): одиночные клетки почти шаровидной или шаровидной формы с многочисленными хлоропластами в зрелых клетках и пристенным хлоропластом, состоящим из двух долей, в молодых клетках, без пиреноида. Диаметр клеток штамма VKM Al-404 достигал 11 мкм, VKM Al-399 – 13 мкм. Размножение 2–4–8 автоспорами. Зооспорогенез в культуре не наблюдали.

Согласно результатам анализа ITS2 штаммы VKM Al-399 и VKM Al-404 являлись представителями рода *Pseudomuriella* и кластеризовались с аутентичным штаммом *P. schumacherensis* UTEX 2252 с максимальной статистической поддержкой (Рис. 8). Генетические дистанции между штаммами VKM Al-399 и VKM Al-404 составили 0.4%, между ними и штаммом *P. schumacherensis* UTEX 2252 – 0–0.4% (внутривидовой уровень). Для сравнения минимальные межвидовые дистанции на примере представителей видов *P. aurantica* и *P. engadinensis* составляют 1.6%. Морфология наших штаммов сходна с описанием вида *P. schumacherensis* (Fučíková et al., 2011). Таким образом, мы идентифицируем штаммы **VKM Al-399** и **VKM Al-404** как *P. schumacherensis.*

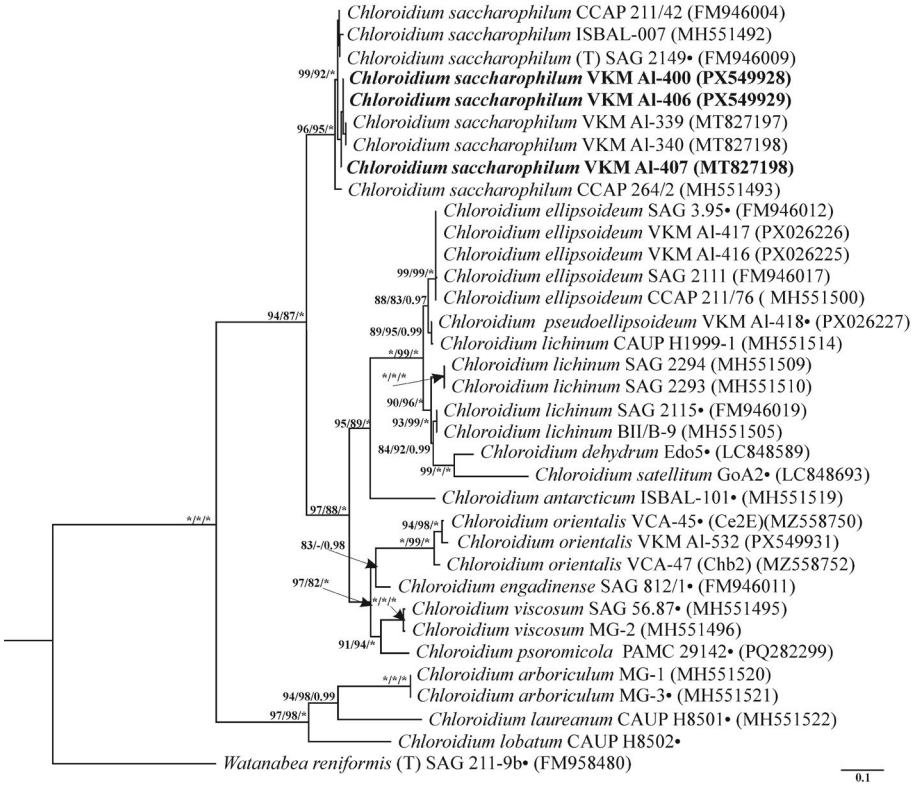


Рис.7. Укорененное филогенетическое дерево зеленых водорослей рода Chloroidium, построенное на основе последовательностей внутреннего транскрибируемого спейсера ITS2 (296 н.). В качестве статистической поддержки узлов дерева указаны значения SH-aLRT/BP/PP. Значения SH-aLRT и BP менее 80%, PP менее 0.8 не указаны. Модель нуклеотидных замен: TIM2 + F + I + G4. Обозначения: • – аутентичные штаммы; (T) – типовой вид, * – максимальная статистическая поддержка. Полужирным шрифтом выделены исследуемые штаммы ВКМ.

Штамм **VKM Al-567** морфологически схож с представителями рода *Coelastrella* (Рис. 2Ж) и характеризовался следующими признаками: клетки одиночные, почти шаровидные или широкоовальные, иногда с полярными утолщениями, 8.4–11.5(17) × 7.3–10 мкм; хлоропласт пристенный, разделен на пластинчатые сегменты; единственный пиреноид окружен крахмальной обверткой. Запасные продукты – капли масла. Бесполое размножение 2–8 автоспорами. Зооспоры не наблюдались.

VKM Al-567 вошел в состав рода *Coelastrella* (Рис. 8) и относился к виду *C. affinis*, поскольку кластеризовался с аутентичным штаммом этого вида VKM Al-356 (SH-aLRT – 98%, BP – 100%, PP – 1.00) и генетическая дистанция с ним составляла всего 0.8%. При этом в рамках рода *Coelastrella* минимальный межвидовой порог между видами C. *multistriata* и *C. corcontica* по данному маркеру был равен 2%. Морфология VKM Al-567 в целом соответствует описанию вида *C. affinis* (Krivina et al., 2024), поэтому штамм отнесен нами к данному виду.

3.3. Харофитовые водоросли

Харофитовые микроводоросли были представлены наиболее часто встречающимся родом *Klebsormidium*. В культурах наблюдали длинные, прямые или слегка изогнутые нити шириной 7.2–15 мкм у штаммов **VKM Al-398**, **409**, **410**, и 6–9 мкм у **VKM Al-402**, **403** и **405**. Клетки содержали один пристенный хлоропласт с пиреноидом, окруженным крахмальной обверткой. Штамм VKM Al-410 при старении культуры характеризовался значительным утолщением клеточных стенок и наличием H-образных фрагментов.

Для идентификации представителей рода *Klebsormidium* (порядок Klebsormidiales, класс Klebsormidiophyceae, отдел Charophyta) использовали пластидный ген *rbc*L. Такой выбор обусловлен тем, что для представителей данного рода не только ген 18S рРНК, но и внутренние транскрибируемые спейсеры ITS1 и ITS2 являются высоко консервативными, поэтому их использование не позволяет четко разграничить виды, особенно внутри клады E (Rindi et al., 2011; Mikhailyuk et al., 2015; Samolov et al., 2019). По данным *rbc*L-анализа штаммы VKM Al-398, VKM Al-409, VKM Al-410 вместе со штаммом K10 кластеризовались с аутентичным штаммом *K. mirabile* VKM Al-436 (SH-aLRT – 99%, BP – 100%, PP – 1.00) в рамках клады E в соответствии с классификацией, предложенной Rindi с соавт. (2011) (Рис. 9). Генетические различия между штаммами VKM Al-398, VKM Al-409, VKM Al-410 отсутствовали, а между этой группой штаммов и аутентичным штаммом *K. mirabile* VKM Al-436 составляли 0.9–1%. Для интерпретации порогов генетических дистанций ориентировались на минимальный межвидовой порог 2% для гена *rbc*L в кладах F и G, где ранее была проведена подробная таксономическая ревизия (Mikhailyuk et al., 2015; Samolov et al., 2019). Так, генетические расстояния между видами *K. mucosum* и *K. crenulatum* составляли 2%,

Рис.8. Укорененное филогенетическое дерево зеленых водорослей родов *Coelastrella* и *Pseudomuriella*, построенное на основе последовательностей фрагмента ITS2 (367 н.). Значения SH-aLRT и BP менее 80%, PP менее 0.8 не указаны. Модель нуклеотидных замен: TIM2 + I + G4. Обозначения: • – аутентичные штаммы; (T) – типовой вид, * – максимальная статистическая поддержка. Полужирным шрифтом выделены исследуемые штаммы ВКМ.

K. karooense и *K. africanum* – 2.2%. Хотелось бы отметить, что собственно в кладе E, чье истинное видовое богатство по-прежнему нуждается в уточнении, минимальные межвидовые дистанции между аутентичными штаммами *K. nitens* SAG 13.91 и *K. dissectum* SAG 2417 составляют лишь 0.7%. На основании анализа *rbc*L, Kaplan с соавт. (2012) даже высказали предположение, что на самом деле это один вид. Однако Mikhailyuk et al. (2015), используя полифазный подход, все-таки отнесли их к разным видам. Тем не менее, учитывая морфологию, которая соответствует описанию вида (Tukhtaboeva et al., 2025), топологию дерева и пороги дистанций в кладах, где таксономический статус видов не вызывает сомнений, на данном этапе исследования мы относим штаммы VKM Al-398, VKM Al-409, VKM Al-410 к виду *K. mirabile*.

Штаммы VKM Al-402, VKM Al-403, VKM Al-405 без сомнения относились к виду *K. flaccidum*. Их морфология соответствует описанию вида (Lokhorst, 1996) (Рис. 2Л). Они вошли в состав клады B/C (Рис. 9) и кластеризовались с аутентичным штаммом этого вида SAG 2307 высокими статистическими поддержками (SH-aLRT – 83%, BP – 97%, PP – 1.00). При этом генетические дистанции между данными штаммами и аутентичным штаммом SAG 2307 составляли 0–0.2%.

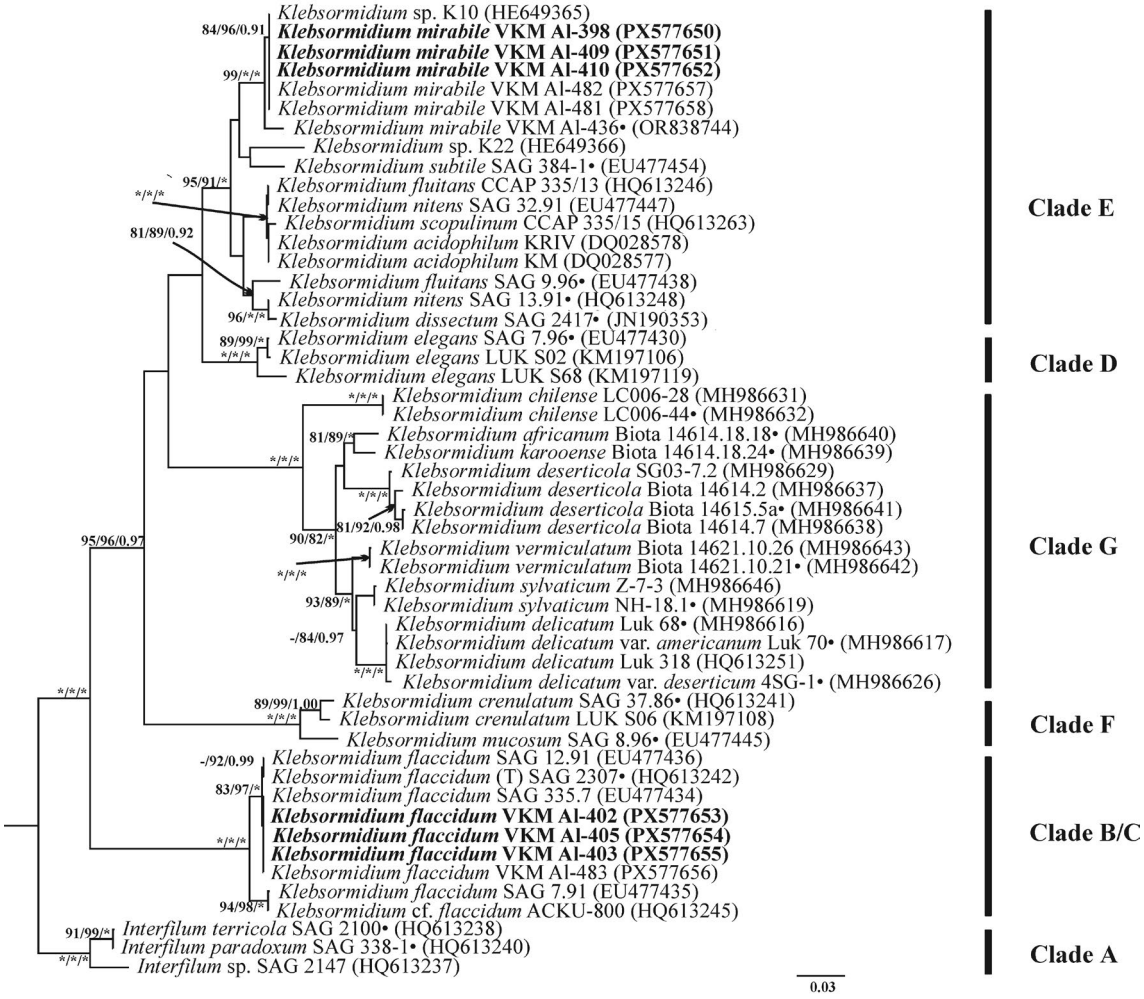


Рис.9. Укорененное филогенетическое дерево харофитовых водорослей рода *Klebsormidium*, построенное на основе последовательностей гена *rbc*L (1217 н.). В качестве статистической поддержки узлов дерева указаны значения SH-aLRT/BP/PP. Значения SH-aLRT и BP менее 80%, PP менее 0.8 не указаны. Модель нуклеотидных замен: TPM2 + F + G4. Обозначения: • – аутентичные штаммы; (T) – типовой вид, * – максимальная статистическая поддержка. Полужирным шрифтом выделены исследуемые штаммы ВКМ.

Полученные данные о видовом составе фототрофных биопленок имеют важное практическое значение для разработки таргетных методов биозащиты строительных материалов. Как показывают современные исследования, биодеградация не сводится лишь к механическому разрушению, а представляет собой двухэтапный процесс: быструю кислотную деградацию минеральной матрицы с последующим хроническим повреждением, опосредованным устойчивостью биопленки (Nowicka-Krawczyk et al., 2026). Знание конкретного видового состава позволяет прогнозировать механизм коррозии и выбирать адекватные методы защиты.

С точки зрения биокоррозии, изолированные нами штаммы обладают разным потенциалом агрессивности. Наиболее агрессивным таксоном является *Chloroidium saccharophilum* (в нашем исследовании обнаружен на бетоне и металле). Согласно данным метаболомных и микроскопических исследований, этот вид обладает толстыми клеточными стенками и способностью к интенсивному синтезу низкомолекулярных органических кислот (щавелевой, лимонной, уксусной). Эти кислоты запускают механизмы хелатирования ионов металлов и кислотного растворения минеральной матрицы (Nowicka-Krawczyk et al., 2026). Кроме того, при естественном отслоении зрелой биопленки *C. saccharophilum* способен физически отрывать минеральные зерна с поверхности субстрата, вызывая необратимые физические повреждения (Nowicka-Krawczyk et al., 2025).

В то же время, доминирующие в наших образцах харофитовые водоросли рода *Klebsormidium* (обнаружены на бетоне, штукатурке и металле) демонстрируют иную стратегию. Их химическая агрессивность оценивается как умеренная (Nowicka-Krawczyk et al., 2026), однако они обладают высокой метаболической пластичностью и стрессоустойчивостью (Holzinger and Pichrtová, 2016). *Klebsormidium* играют ключевую роль в стабилизации биопленки: они активно синтезируют внеклеточные полимерные вещества, которые удерживают влагу на поверхности материала, создавая локальный микроклимат. Это приводит к физическому выветриванию (циклы замерзания-оттаивания, набухание) и поддерживает постоянную влажность, необходимую для коррозионных процессов (Nowicka-Krawczyk et al., 2022; Nowicka-Krawczyk et al., 2025).

Среди цианобактерий высокую коррозионную активность проявляют нитчатые формы со слизи-

стыми чехлами, такие как *Microcoleus autumnalis*, *Phormidesmis priestleyi*, виды рода *Leptolyngbya*, обнаруженные на бетонных и металлических конструкциях. Наличие слизистых чехлов и способность синтезировать УФ-экранирующие пигменты (например, сцитонемин) позволяют им выживать в экстремальных условиях городской среды, продолжая проникать в субстрат и выделять метаболиты, разрушающие материал (Kala and Pandey, 2021; Keshari et al., 2021). Обильный слизистый матрикс не только физически удерживает влагу, но и подготавливает субстрат для последующей сукцессии гетеротрофных микроорганизмов (грибов и бактерий), обладающих еще более высоким деструктивным потенциалом (Nowicka-Krawczyk et al., 2022). Особый интерес представляет впервые выявленное нами присутствие *Cymatolege* sp. на антропогенных субстратах. Высокая экологическая пластичность этого рода, ранее известного преимущественно по природным биотопам, свидетельствует о его потенциальной способности к активной колонизации и возможном участии в процессах биоповреждения, что требует дальнейших исследований его деструктивного потенциала.

4. Выводы

В наземных биопленках на искусственных субстратах в условиях г. Пущино выявлено 19 штаммов фототрофных микроорганизмов, включающих 5 штаммов цианобактерий (порядки Leptolyngbyales, Nodosilineales и Oscillatoriales) и 14 штаммов эукариотических микроводорослей (отделы Chlorophyta и Charophyta). Доминирующее положение среди них занимают представители родов *Klebsormidium* (Charophyta) и *Chloroidium* (Chlorophyta).

Подтверждена субстратная специфичность фототрофов: наибольшее таксономическое разнообразие (почти 60% от общего количества исследованных таксонов) приурочено к такому пористому и влагоемкому материалу как бетон. Чуть больше 40% таксонов обнаружено на металлических поверхностях. Оба типа субстратов населяют цианобактерии, зеленые микроводоросли *Chloroidium saccharophilum* и *Pseudomuriella schumacherensis*, а также харофитовые водоросли рода *Klebsormidium*. С остальных субстратов (дерево, штукатурка, цементно-песчаная смесь) изолировано по одному виду микроводорослей.

На основании комплекса морфологических признаков, топологии филогенетических деревьев и генетических дистанций два штамма *Leptolyngbya* sp. VKM Al-382 и *Cymatolege* sp. VKM Al-383 определены как кандидаты в новые для науки виды, что требует их дальнейшего подробного изучения.

Впервые представитель рода *Cymatolege*, известного ранее как ассоциированный симбионт морских губок, обнаружен в субэральном наземном биотопе на антропогенном бетонном субстрате. Это существенно расширяет известный экологический диапазон и представления о пластичности данной группы цианобактерий.

Депонирование всех изученных штаммов во Всероссийскую коллекцию микроорганизмов обеспечивает доступность биологического материала для последующих фундаментальных и прикладных исследований в области биокоррозии и биозащиты строительных материалов.

Благодарности

Авторы выражают благодарность Елене Анатольевне Портной и ведущему инженеру Раисе Леонидовне Бакулиной за помощь в проведении исследований.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Грант № 075-15-2025-485).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

Albertano P. 2012. Cyanobacterial biofilms in monuments and caves. In: Ecology of cyanobacteria II: their diversity in space and time. Dordrecht: Springer Netherlands, pp. 317–343. DOI: 10.1007/978-94-007-3855-3_11

Baele G., Ji X., Hassler G.W. et al. 2025. BEAST X for Bayesian phylogenetic, phylogeographic and phylodynamic inference. Nature Methods 22(8): 1653–1656. DOI: 10.1038/s41592-025-02751-x

Barberousse H. 2006. Etude de la diversité des algues et des cyanobactéries colonisant les revêtements de façade en France et recherche des facteurs favorisant leur implantation [Study of the diversity of algae and cyanobacteria colonizing facade coatings in France and search for factors favoring their establishment]. PhD Thesis, Museum National d'Histoire Naturelle, Paris, France. (in French)

Barido-Sottani J., Schwery O., Warnock R.C. et al. 2024. Practical guidelines for Bayesian phylogenetic inference using Markov chain Monte Carlo (MCMC). Open Research Europe 3: 204. DOI: 10.12688/openreseurope.16679.1

Cao S., Yang C., Tian H. et al. 2025. *Deuterostichococcus alpinus* sp. nov. (Chlorophyta; Trebouxiophyceae) from Antarctica. Czech Polar Reports 15(1): 38–48. DOI: 10.5817/CPR2025-1-3

Collins R.A., Cruickshank R.H. 2013. The seven deadly sins of DNA barcoding. Molecular ecology resources 13(6): 969–975. DOI: 10.1111/1755-0998.12046

Crispim C.A., Gaylarde P.M., Gaylarde C.C. 2003. Algal and cyanobacterial biofilms on calcareous historic buildings. Current Microbiology 46(2): 79–82. DOI: 10.1007/s00284-002-3815-z

Darienko T., Lukešová A., Proeschold T. 2018. The polyphasic approach revealed new species of *Chloroidium* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta). Phytotaxa 372(1): 51–66. DOI: 10.11646/phytotaxa.372.1.4

Davydov D., Vilnet A. 2022. Review of the cyanobacterial genus *Phormidesmis* (Leptolyngbyaceae) with the description of *Apatinema* gen. nov. Diversity 14(9): 731. DOI: 10.3390/d14090731

D'Orazio M., Quagliarini E. 2023. Influence of the wind driving rain on algae growth on building facades. A prediction based on neural networks. DOI: 10.2139/ssrn.4517307

Fučíková K., Rada J.C., Lewis L.A. 2011. The tangled taxonomic history of *Dictyococcus*, *Bracteacoccus* and *Pseudomuriella* (Chlorophyceae, Chlorophyta) and their distinction based on a phylogenetic perspective. Phycologia 50(4): 422–429. DOI: 10.2216/10-69.1

Galindo-Alcázar O., Medina-Jaritz N.B., Garduño-Solórzano G. et al. 2018. Cyanobacteria and microalgae from surface biofilm from Malinalco, Mexico, an archaeological site. Polibotánica 45: 131–146. DOI: 10.18387/polibotanica.45.10

Gaylarde C.C. 2020. Influence of environment on microbial colonization of historic stone buildings with emphasis on cyanobacteria. Heritage 3(4): 1469–1482. DOI: 10.3390/heritage3040081

Guiry M.D., Guiry G.M. 2025. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. URL: http://www.algaebase.org

Hoang D.T., Chernomor O., Von Haeseler A. et al. 2018. UFBoot2: improving the ultrafast bootstrap approximation. Molecular Biology and Evolution 35(2): 518–522. DOI: 10.1093/molbev/msx281

Holzinger A., Pichrtová M. 2016. Abiotic stress tolerance of charophyte green algae: new challenges for omics techniques. Frontiers in Plant Science 7: 678. DOI: 10.3389/fpls.2016.00678

Huaman Y.N.C., Villanueva R.S., Huanca O.L.C. 2025. Biopelículas de microalgas y cianobacterias, pioneras en la colonización y deterioro del monumento de Saqsaywaman [Microalgae and cyanobacteria biofilms, pioneers in the colonization and deterioration of the Saqsaywaman monument]. Ambiente, Comportamiento y Sociedad 8(1): 1–20. DOI: 10.51343/racs.v8i1.1503 (in Spanish)

Johansen J.R., Kovacik L., Casamatta D.A. et al. 2011. Utility of 16S-23S ITS sequence and secondary structure for recognition of intrageneric and intergeneric limits within cyanobacterial taxa: *Leptolyngbya corticola* sp. nov. (Pseudanabaenaceae, Cyanobacteria). Nova Hedwigia 92(3): 283. DOI: 10.1127/0029-5035/2011/0092-0283

Kala R., Pandey V.D. 2021. Biocolonization and biodeterioration of monuments by cyanobacteria. Plant Archives 21(1): 1531–1536.

Kaplan F., Lewis L.A., Wastian J. et al. 2012. Plasmolysis effects and osmotic potential of two phylogenetically distinct alpine strains of *Klebsormidium* (Streptophyta). Protoplasma 249(3): 789–804. DOI: 10.1007/s00709-011-0324-z

Katoh K., Rozewicki J., Yamada K.D. 2019. MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. Briefings in Bioinformatics 20(4): 1160–1166. DOI: 10.1093/bib/bbx108

Keshari N., Adhikary S.P. 2014. Diversity of cyanobacteria on stone monuments and building facades of India and their phylogenetic analysis. International Biodeterioration & Biodegradation 90: 45–51. DOI: 10.1016/j.ibiod.2014.01.014

Keshari N., Das S.K., Adhikary S.P. 2021. Colonization and survival of a stress tolerant cyanobacterium on a heritage monument of Santiniketan, India. International Biodeterioration & Biodegradation 164: 105294. DOI: 10.1016/j.ibiod.2021.105294

Konstantinou D., Voultsiadou E., Panteris E. et al. 2021. Revealing new sponge-associated cyanobacterial diversity: Novel genera and species. Molecular phylogenetics & evolution 155: 106991. DOI: 10.1016/j.ympev.2020.106991

Krivina E., Sinetova M., Zadneprovskaya E. et al. 2024. The genus *Coelastrella* (Chlorophyceae, Chlorophyta): molecular species delimitation, biotechnological potential, and description of a new species *Coelastrella affinis* sp. nov., based on an integrative taxonomic approach. Antonie van Leeuwenhoek 117(113): 1–23. DOI: 10.1007/s10482-024-02008-1

Lokhorst G.M. 1996. Comparative taxonomic studies on the genus *Klebsormidium* (Charophyceae) in Europe. Cryptogamie Studies 5: 1–132.

Macedo M.F., Vilarigues M.G., Coutinho M.L. 2021. Biodeterioration of glass-based historical building materials: an overview of the heritage literature from the 21st century. Applied Sciences 11(20): 9552. DOI: 10.3390/app11209552

Mikhailyuk T.I., Vinogradova O.M., Glaser K. et al. 2018. Diversity of terrestrial algae of Cape Kazantip (the Sea of Azov, Ukraine) and some remarks on their phylogeny and ecology. International Journal on Algae 20(4): 313–338. DOI: 10.1615/InterJAlgae.v20.i4.10

Mikhailyuk T., Glaser K., Holzinger A. et al. 2015. Biodiversity of *Klebsormidium* (Streptophyta) from alpine biological soil crusts (Alps, Tyrol, Austria, and Italy) Journal of Phycology 51(4): 750–767. DOI: 10.1111/jpy.12316

Minh B.Q., Schmidt H.A., Chernomor O. et al. 2020. IQ-TREE 2: new models and efficient methods for phylogenetic inference in the genomic era. Molecular Biology and Evolution 37(5): 1530–1534. DOI: 10.1093/molbev/msaa015

Nowicka-Krawczyk P., Komar M., Gutarowska B. 2022. Towards understanding the link between the deterioration of building materials and the nature of aerophytic green algae. Science of the Total Environment 802: 149856. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.149856

Nowicka-Krawczyk P., Komar M., Gutarowska B. et al. 2025. Growth strategy of aerial green algae on building materials in the temperate climate zone and its relevance to substrate biodeterioration. Scientific Reports 16(1): 2167. DOI: 10.1038/s41598-025-31926-x

Nowicka-Krawczyk P., Komar M., Gutarowska B. et al. 2026. Assessing the potential for biogeochemical deterioration of building materials by green algae in temperate climate via an integrated metabolomic approach. Scientific Reports. DOI: 10.1038/s41598-026-58452-8

Piontek M., Lechów H. 2014. Aerophytic cyanobacteria as a factor in the biodegradation of technical materials on external building walls. Civil and Environmental Engineering Reports 13: 109–119. DOI: 10.2478/ceer-2014-0019

Proeschold T., Darienko T. 2020. The green puzzle *Stichococcus* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta): New generic and species concept among this widely distributed genus. Phytotaxa 441(2): 113–142. DOI: 10.11646/phytotaxa.441.2.2

Rambaut A., Drummond A.J., Xie D. et al. 2018. Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. Systematic Biology 67(5): 901–904. DOI: 10.1093/sysbio/syy032

Reboah P., Bolou-Bi C.B., Nowak S. et al. 2023. Influence of climatic factors on cyanobacteria and green algae development on building surface. PLOS ONE 18(3): e0282140. DOI: 10.1371/journal.pone.0282140

Rindi F., Mikhailyuk T.I., Sluiman H.J. et al. 2011. Phylogenetic relationships in *Interfilum* and *Klebsormidium* (Klebsormidiophyceae, Streptophyta) Molecular Phylogenetics and Evolution 58(2): 218–231. DOI: 10.1016/j.ympev.2010.11.030

Samad L.K., Adhikary S.P. 2008. Diversity of micro-algae and cyanobacteria on building facades and monuments in India. Algae 23(2): 91–99. DOI: 10.4490/algae.2008.23.2.091

Samolov E., Mikhailyuk T., Lukešová A. et al. 2019. Usual alga from unusual habitats: Biodiversity of *Klebsormidium* (Klebsormidiophyceae, Streptophyta) from the phylogenetic superclade G isolated from biological soil crusts. Molecular Phylogenetics and Evolution 133: 236–255. DOI: 10.1016/j.ympev.2018.12.018

Sayers E.W., Beck J., Bolton E.E. et al. 2021. Database resources of the National Center for Biotechnology

Information. Nucleic Acids Research 49(D1): D10-D17.

Scheerer S., Ortega-Morales O., Gaylarde C. 2009. Microbial deterioration of stone monuments – an updated overview. Advances in Applied Microbiology 66: 97–139. DOI: 10.1016/S0065-2164(08)00805-8

Shimodaira H. 2002. An approximately unbiased test of phylogenetic tree selection. Systematic Biology 51(3): 492–508. DOI: 10.1080/10635150290069913

Shirakawa M.A., Loh K., John V.M. et al. 2012. Resistance of cyanobacterial fouling on architectural paint films to cleaning by water jet. Current Microbiology 64(4): 312–316. DOI: 10.1007/s00284-011-0072-5

Sommer V., Mikhailyuk T., Glaser K. et al. 2020. Uncovering unique green algae and cyanobacteria isolated from biocrusts in highly saline potash tailing pile habitats, using an integrative approach. Microorganisms 8(11): 1667. DOI: 10.3390/microorganisms8111667

Strunecký O., Elster J., Komárek J. 2010. Phylogenetic relationships between geographically separate *Phormidium* cyanobacteria: is there a link between north and south polar regions? Polar Biology 33(10): 1419–1428. DOI: 10.1007/s00300-010-0834-8

Tamura K., Stecher G., Kumar S. 2021. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. Molecular Biology and Evolution 38(7): 3022–3027. DOI: 10.1093/molbev/msab120

Taton A., Grubisic S., Brambilla E. et al. 2003. Cyanobacterial diversity in natural and artificial microbial mats of Lake Fryxell (McMurdo Dry Valleys, Antarctica): a morphological and molecular approach. Applied and Environmental Microbiology 69(9): 5157–5169.

Tukhtaboeva Y., Krivina E., Redkina V. et al. 2025. Species delimitation in the genus *Klebsormidium* (Klebsormidiophyceae, Charophyta), including description of *Klebsormidium mirabile* sp. nov. with high content of polyunsaturated fatty acids. PhytoKeys 266: 53. DOI: 10.3897/phytokeys.266.158514

White T.J., Bruns T., Lee S. et al. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis M.A., Gelfand D.H., Sninsky J.J., White T.J. (Eds.), PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. San Diego: Academic Press, pp. 315–322. DOI: 10.1016/b978-0-12-372180-8.50042-1

Original Article
LIMNOLOGY FRESHWATER BIOLOGY

Potential of the green microalgae *Tetraselmis viridis* and *Dunaliella salina* for bioremediation of aquatic ecosystems from the organophosphorus herbicide glyphosate

Solomonova E.S.*, Shoman N.Yu., Akimov A.I., Borovkov A.B.

A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS, Federal Research Center, Sevastopol, Russia

ABSTRACT. Agricultural activities in Crimea and Sevastopol lead to contamination of aquatic ecosystems with herbicides, particularly glyphosate. A comparative assessment of the physiological response of the green microalgae *Tetraselmis viridis* and *Dunaliella salina* to glyphosate exposure (0–2100 μg/L) under optimal (45 μE m^{-2} s^{-1}) and high (500 μE m^{-2} s^{-1}) irradiance was conducted. The dynamics of algal abundance, physio-biochemical parameters of cells (chlorophyll *a* content, photosynthetic apparatus efficiency, cell size and granularity, reactive oxygen species production), and the abundance of associated bacteria were evaluated using microscopy, flow cytometry, and PAM fluorometry. It was found that glyphosate stimulates the growth of *T. viridis* and *D. salina*, which is reflected in high photosynthetic activity of cells, low oxidative stress levels, and increased biomass production. Under optimal irradiance, *T. viridis* exhibits growth stimulation at low and intermediate glyphosate concentrations (up to 700 μg/L) and inhibition at high doses. In contrast, *D. salina* demonstrates exceptional tolerance over a wide range of herbicide concentrations (up to 2100 μg/L). High irradiance enhances both the stimulatory and toxic effects of glyphosate on *T. viridis* while narrowing the tolerance range of *D. salina*, reducing the toxicity threshold of cells to the herbicide. It was shown that glyphosate addition stimulates the growth of associated bacteria. However, intensive algal growth outpaces bacterial population growth, indicating direct glyphosate uptake by microalgae as a nutrient source. The ability of both species to directly metabolize glyphosate and the possibility of controlling their physiological state through light conditions determine the high potential of these microalgae for application in biological wastewater treatment systems contaminated with herbicides. The feasibility of using *T. viridis* for rapid removal of low to moderate glyphosate doses (up to 700 μg/L) is demonstrated. *D. salina* can be used for the treatment of waters contaminated with high glyphosate concentrations.

Keywords: herbicides, glyphosate, microalgae, bioremediation, hormetic growth

For citation: Solomonova E.S., Shoman N.Yu., Akimov A.I., Borovkov A.B. Potential of the green microalgae *Tetraselmis viridis* and *Dunaliella salina* for bioremediation of aquatic ecosystems from the organophosphorus herbicide glyphosate // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - P. 470-487. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-470

1. Introduction

In Crimea and Sevastopol, agricultural activities impose a significant burden on aquatic ecosystems. The major rivers of Crimea — the Salgir, Alma, Kacha, and Chernaya — carry various pollutants into the Black and Azov Seas, including the coastal waters off Sevastopol. It has previously been shown that significant amounts of pesticides and nutrients enter the sea through agricultural runoff, as well as through groundwater flowing beneath intensive farming areas (e.g., the Baydar Valley) (Malakhova et al., 2023). Glyphosate-based herbicides are the most common non-selective, post-emergence, broad-spectrum herbicides used worldwide for controlling annual and perennial weeds in agroecosystems, home gardens, ornamental horticulture, and aquatic ecosystems (Battaglin et al., 2014). Over recent decades, there has been a significant increase in glyphosate consumption, making it one of the most widely used agrochemicals globally (Mercurio et al., 2014). The mechanism of action of glyphosate involves

*Corresponding author. E-mail address: solomonov83@mail.ru (E.S. Solomonova)

Received: June 04, 2026;
Accepted after revised: July 28, 2026;
Available online: August 28, 2026

© Author(s) 2026. This work is distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

competitive inhibition of the enzyme 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS), which catalyzes a key reaction in the shikimate pathway of aromatic amino acid biosynthesis (Romano-Armada and Rajal, 2022).

Currently, the main approaches for pesticide removal from water bodies include physicochemical and biological methods. Among physicochemical methods, adsorption onto porous materials is characterized by high target compound removal efficiency; however, it is associated with significant operational costs (Le et al., 2023). Oxidation and photocatalytic degradation methods demonstrate high efficacy in the destruction of organic pollutants but require the use of substantial amounts of catalysts and chemical reagents, which not only increases treatment costs but also poses risks of secondary environmental contamination (Kang et al., 2012; Tang et al., 2016). Among biological methods, activated sludge systems are widely used (Liu et al., 2025).

A promising direction in biological wastewater treatment is the use of microalgae (Ramanan et al., 2016; Semple et al., 1999). This approach not only ensures pollutant removal and carbon dioxide sequestration but is also characterized by high resource efficiency, which determines its significant potential (Cáceres et al., 2008). The authors of the study (Cáceres et al., 2008) showed that ten different species of microalgae and cyanobacteria are capable of oxidizing the nematicide fenamiphos, belonging to the group of organophosphorus compounds, with *Chlorella* sp. and *Anabaena* sp. achieving 99% detoxification of this compound. The same research group found that the freshwater microalga *P. subcapitata* and the soil alga *Chlorococcum* sp. accumulate and transform fenamiphos by 100% and 62%, respectively, suggesting higher efficiency when using a liquid suspension (Cáceres et al., 2008a). The cyanobacterium *Anabaena azotica*, isolated from rice paddies, exhibited tolerance and bioremediation potential for γ-HCH (Gamma-hexachlorocyclohexane, a preparation containing 99–100% of this substance, is widely known as lindane) degradation, removing nearly 50% of this compound within 5 days (Zhang et al., 2012). Another study documented a spontaneous mutation that enabled *S. intermedius* to acquire lindane resistance as well as demonstrate potential for its removal from aquatic systems (González et al., 2012). *Chlorococcum* sp. and *Scenedesmus* sp. were found to be capable of endosulfan degradation both in liquid medium and in soil (Sethunathan et al., 2004). However, not all algal species possess the ability to degrade herbicides. As previously noted in the scientific literature, their responses to glyphosate exposure show high species specificity (Wang et al., 2016; Solomonova et al., 2024a). The key factor in bioremediation of water bodies from glyphosate is not merely herbicide-tolerant species, but rather species capable of utilizing it. Numerous studies have recorded massive cyanobacterial growth upon glyphosate addition to culture media (Chorus and Welker, 2021; Qiu et al., 2013), indicating the potential use of these microorganisms as degraders. Studies (Vera et al., 2012; Gattás et al., 2016; Vera et al., 2010; Pizarro et al., 2016; Wang et al., 2016) have also demonstrated a hormetic effect of glyphosate on various phytoplankton representatives, expressed as stimulation of growth processes at certain concentrations, which can be used to intensify bioremediation.

Strains of the genus *Tetraselmis* attract researchers' attention due to their high halo- and eurythermality, efficient removal of nutrients (Amit et al., 2017), as well as their ability to accumulate lipids and biologically active compounds, making them promising for the circular bioeconomy (Pereira et al., 2018; 2019; Goswami et al., 2022). These microalgae are successfully used for the treatment of various types of wastewater (urban, municipal, industrial, aquaculture) and for heavy metal remediation (Naorbe and Serrano, 2018; Pérez-Rama et al., 2002), and the resulting biomass can serve as feedstock for biofuel production (Goswami et al., 2022). Green microalgae of the genus *Dunaliella* can also be used for wastewater treatment due to their high ability to assimilate nutrients from the environment (Oren, 2005). Previous studies have also revealed the potential of *Dunaliella* biomass as an alternative to fossil fuels, since under stress conditions such as nutrient deficiency, these microalgae accumulate chemical energy in the form of neutral lipids (triglycerides) (Wijffels and Barbosa, 2010).

However, although representatives of the genera *Tetraselmis* and *Dunaliella* have proven themselves as effective bioremediation agents, their potential for glyphosate degradation and removal remains largely unexplored. Meanwhile, the efficiency of pesticide bioremediation using microalgae is determined by multiple factors: the toxicity and concentration of the pollutant, the nature of contamination (localization), as well as abiotic environmental parameters — temperature, pH, light intensity, and water availability — which collectively influence the ability of autotrophic microorganisms to accumulate or transform xenobiotics (Zhang et al., 2014; Fang et al., 2016). In this regard, identifying the resistance and bioremediation potential of green microalgae towards glyphosate represents a relevant and promising direction requiring further experimental research, especially in the context of the combined effects of abiotic environmental factors and anthropogenic pollutants.

The main objective of this study is to assess the resistance and bioremediation potential of microalgae of the genera *Tetraselmis* and *Dunaliella* towards glyphosate under optimal and high light intensity, in order to substantiate the feasibility of their application in technologies for the tertiary treatment of aquatic environments contaminated with herbicides.

2. Materials and methods

2.1. Materials and algal incubation

Axenic cultures of the green microalgae *Dunaliella salina* (Teod.), strain IBSS-1, and *Tetraselmis viridis* (Rouchijajnen) R.E. Norris, Hori & Chihara were obtained from the Collection of Living Cultures of Marine Planktonic Microalgae of the Joint Use Center "Hydrobionts of the World Ocean" (WDCM No. 1201) at

the A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS (IBSS). Prior to the experiment, the cultures were in the stationary growth phase, which made it possible to assess the ability of *D. salina* and *T. viridis* to grow using glyphosate as the sole nutrient source. During the experiment, microalgae were cultivated in pure sterile seawater without the addition of nutrient medium. For this purpose, water from the open part of the Black Sea (salinity 18‰) was used, which was pre-filtered through Whatman glass fiber filters (GF/C) (Sartorius Stedim Biotech, France) with a pore diameter of 1 μm and sterilized three times at 85°C. The initial cell density in all experimental variants was 28 × 10^4 cells/mL. The microalgae were cultivated at optimal (45 μE m^{-2} s^{-1}) and high (500 μE m^{-2} s^{-1}) light intensities, a temperature of 20°C, and a light:dark cycle of 14:10 hours. A light panel with cool-white LEDs was used to illuminate the flasks. Light intensity was measured using a 4π quantum scalar irradiance sensor (QSL 2101, Biospherical Instruments Inc., USA). Cultures were aerated using aquarium compressors, and the pH of the culture medium was 8.2–8.5.

2.2. Experimental procedures

During the experiments, the effect of the herbicide glyphosate on the growth, cytometric and fluorescent parameters of *D. salina* and *T. viridis* was studied. Technical-grade glyphosate (CAS 1071-83-6, 95% purity) obtained from Hubei Novcare Pharmaceutical Co., Ltd. (China) was used to prepare toxicant solutions. Glyphosate was added to the experimental flasks at concentrations of 350, 700, 1050 (for *T. viridis* only), 1400, and 2100 μg/L. The selection of concentrations was based on the results of preliminary experiments that allowed us to establish the range of toxic action of the herbicide (Solomonova et al., 2024a; Solomonova et al., 2024b). Microalgae cultivated without glyphosate were used as a control. Each experimental variant was performed in triplicate. After glyphosate addition, the microalgae were cultivated in batch mode under two light intensities for 6 days.

2.3. Analytical methods

Cytometric analysis of samples. The abundance of microalgae in the samples was determined by flow cytometry based on forward light scattering (FS) and red chlorophyll autofluorescence of individual cells (FL4, 655 nm). Sample analysis was performed on a MACS Quant Analyzer flow cytometer (Miltenyi Biotec, Germany) at the Joint Use Center "Spectrometry and Chromatography" of the FRC IBSS. Data processing was carried out using FCS Express 7 Research Edition software.

Reactive oxygen species (ROS) production was assessed by measuring the fluorescence of 2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate (H2DCF-DA; Merck, Germany) on cytograms based on forward light scattering (FS) and cell fluorescence at a wavelength of 525 nm. The autofluorescence of *D. salina* and *T. viridis* cells in this spectral region was subtracted beforehand. Staining of microalgae was performed for 35 minutes in the dark after adding 5 μL of H2DCF-DA working solution (5 mg mL^{-1}) per 1 mL of culture suspension immediately before measurement (Wang and Joseph, 1999).

Bacterial abundance was determined in samples stained with SYBR Green I (Molecular Probes, USA) by gating the cell population on two-parameter cytograms of forward light scattering (FS) and SYBR Green I fluorescence in the green spectral region (FL1 channel, 525 nm) on dimensionless logarithmic scales. Staining with SYBR Green I was performed in the dark for 40 minutes immediately before measurement according to Marie et al. (1997).

PAM fluorimetry method. Fluorescence measurements of the microalgal pigment complex were performed using a pulse-amplitude modulation fluorimeter "Mega-25m" (LLC "Gene and Cell Therapy," Russia) with excitation light at a wavelength of 455 nm. A detailed description of the methodology and characteristics of this fluorimeter is presented in Pogosyan et al. (2009). The efficiency of photosynthetic apparatus operation after dark adaptation of cells (Fv/Fm) was calculated using the formula:

$$\frac{Fv}{Fm} = \frac{Fm - Fo}{Fm},$$

where Fo is the chlorophyll *a* fluorescence level with open reaction centers, and Fm is the maximum chlorophyll *a* fluorescence level with closed reaction centers.

The relative maximum electron transport rate of photosystem II at a light intensity of I = 500 μE m^{-2} s^{-1} and an exposure duration of 40 s was calculated using the formula:

$$rETR = \frac{Fm' - Fo'}{Fm'} \cdot I,$$

where Fm' is the maximum chlorophyll *a* fluorescence under continuous illumination, and Fo' is the minimum (baseline) chlorophyll *a* fluorescence under continuous illumination.

Statistical analysis. Statistical data processing was performed using Microsoft Office and Golden Software Grapher-16 software. Data points in the graphs and table represent mean values of three replicates. Bars indicate standard deviations of the obtained values. The significance of differences between samples was assessed using Student's t-test at $p < 0.05$.

3. Results and discussion

3.1. Comparative analysis of the effect of glyphosate on the growth of *T. viridis* and *D. salina* and their associated microflora under different light intensities

The combined effect of the herbicide glyphosate (0–2100 μg/L) and light intensity (optimal / high light) on the population dynamics of the microalgae *T. viridis* and *D. salina* was assessed. In control samples (0 μg/L glyphosate) under optimal light conditions, *T. viridis* showed a decrease in cell abundance from 28 × 10^4 cells/mL to 12 × 10^4 cells/mL by day 6 of cultivation, while *D. salina* decreased from 28 × 10^4 cells/mL to 25

× 10^4 cells/mL. This is due to the transition of the cultures into the stationary growth phase, which is accompanied by subsequent algal degradation resulting from nutrient depletion in the medium. When microalgae were grown under high light intensity, the cell abundance of *T. viridis* decreased to 7.2 × 10^4 cells/mL by day 6, whereas *D. salina* decreased to 15 × 10^4 cells/mL. This result indicates greater resistance of *D. salina* to high light intensity, which is consistent with previously published data (Borovkov et al., 2020).

Glyphosate addition at concentrations of 350–1050 μg/L under optimal light conditions induced hormetic growth of *T. viridis* cells. The maximum increase in cell abundance (75.2 × 10^4 cells/mL) was observed at 700 μg/L glyphosate. At a pollutant concentration of 350 μg/L, this value reached 33 × 10^4 cells/mL, and at 1050 μg/L — 54 × 10^4 cells/mL (Fig. 1a). Increasing the light intensity to 500 μE m^{-2} s^{-1} shifted the hormetic effect to lower glyphosate concentrations: the maximum increase in *T. viridis* abundance (85 × 10^4 cells/mL) was achieved at 350 μg/L glyphosate, which is 13% higher than the value under optimal light conditions (Fig. 1c). At 700 μg/L glyphosate, the maximum culture abundance was 52 × 10^4 cells/mL, which is 34% lower than the values at the same herbicide concentration under optimal light conditions. At 1050 μg/L herbicide, conversely, a gradual decline in culture suspension density to 25 × 10^4 cells/mL was observed by day 6 of the experiment. High glyphosate doses (1400 and 2100 μg/L) exerted acute toxic effects on *T. viridis* growth. The severity of the effect increased with increasing light intensity. Under optimal light conditions, *T. viridis* abundance decreased to 0.2 × 10^4 cells/mL and to 0 by day 6 at 1400 and 2100 μg/L glyphosate, respectively. Under high light intensity (500 μE m^{-2} s^{-1}), culture death at both concentrations occurred as early as day 3 of the experiment. Thus, increased light intensity enhances both the stimulatory effect of moderate herbicide concentrations (likely due to more active metabolism and phosphorus utilization from glyphosate) and the toxicity of high doses.

D. salina also exhibited growth stimulation upon glyphosate addition. Under optimal light conditions, high cell resistance to elevated herbicide concentrations was observed. At 1400 and 2100 μg/L, the culture abundance reached 81 and 93 × 10^4 cells/mL, respectively, by day 6 (Fig. 1b). At 350 and 700 μg/L glyphosate, the growth increase of *D. salina* was significantly lower, reaching 58–65 × 10^4 cells/mL. Under high light intensity, the growth dynamics of *D. salina* changed substantially. The absolute maximum increase in cell abundance (91 × 10^4 cells/mL) was observed at 1400 μg/L glyphosate. Meanwhile, at 2100 μg/L, culture elimination was observed (Fig. 1d). At concentrations of 350 and 700 μg/L, *D. salina* abundance reached maximum values of 47 and 63 × 10^4 cells/mL, respectively, as early as day 2 of the experiment. Upon further cultivation under these conditions, a decrease in this parameter to 21–23 × 10^4 cells/mL was observed by day 6. This result indicates that the stimulatory effect of moderate herbicide doses under light stress conditions is preserved but occurs more rapidly due to the higher growth rate of the cells.

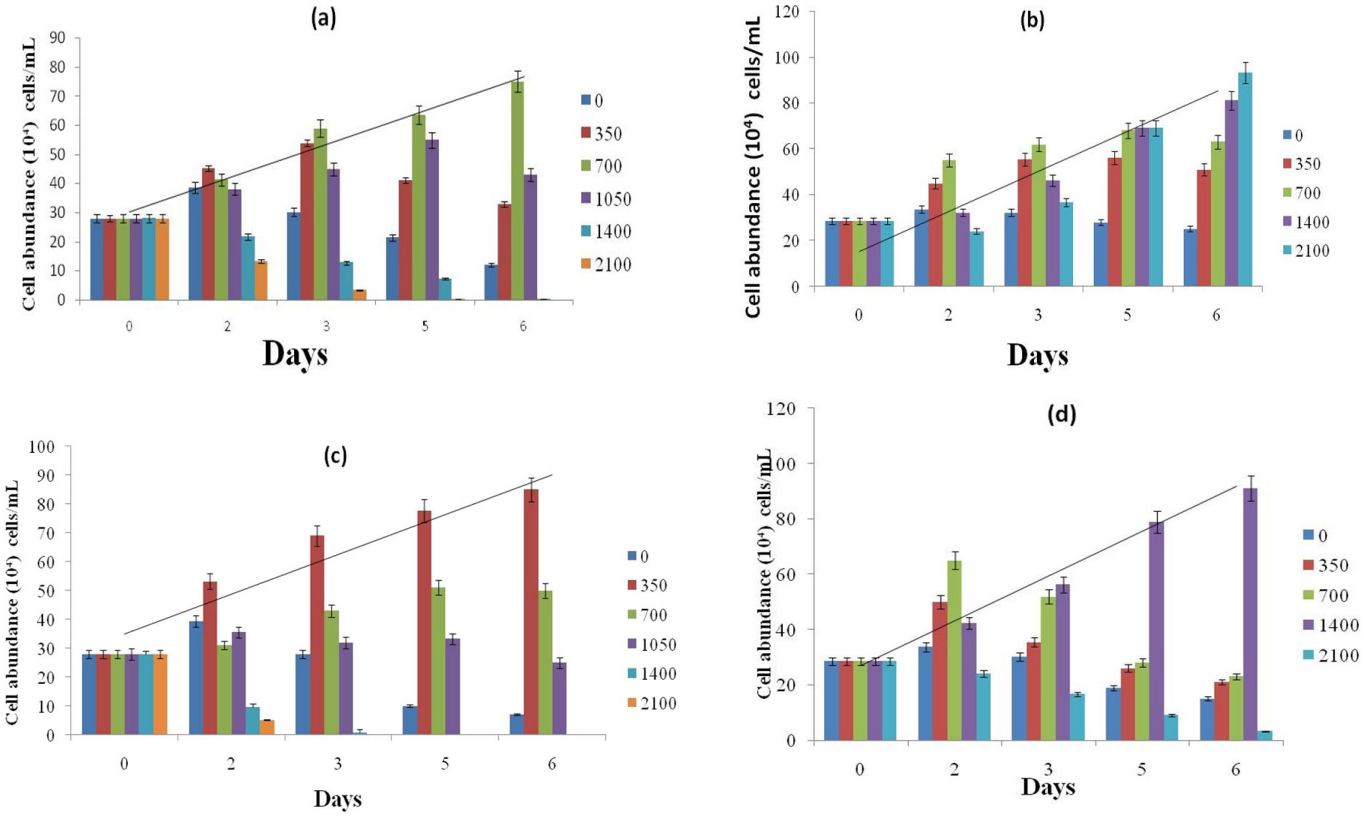


Fig.1. Effect of glyphosate on changes in cell number of *T. viridis* (a, c) and *D. salina* (b, d). a, b – light intensity of 45 μE m^{-2} s^{-1}; c, d – light intensity of 500 μE m^{-2} s^{-1}. Bars show the mean (n = 3) cell density (cells/mL) in the control sample and for each evaluated glyphosate concentration (μg/L). Error bars represent the standard error.

Thus, glyphosate exerts a stimulatory effect on the growth of both cultures —*T. viridis* and *D. salina*. At the same time, *D. salina* demonstrates higher resistance to high herbicide concentrations. Light intensity acts as a key modulator of algal sensitivity: elevated light intensity accelerates metabolic processes, thereby potentiating both the stimulatory and toxic effects of glyphosate.

Obviously, the observed hormesis effect in *T. viridis* and *D. salina* is related to their ability to use glyphosate as a source of mineral nutrition, as has been previously shown for other species of phototrophic microorganisms (Maršálek and Rojíčková, 1996; Qiu et al., 2013). It is known that many microalgae can utilize dissolved organic phosphorus compounds through hydrolysis by extracellular enzymes, such as alkaline phosphatase (Dyhrman and Ruttenberg, 2006). Some microalgal species actively synthesize and release these enzymes into the environment when inorganic phosphate is deficient (Dabney and Patiño, 2018). Phosphatases hydrolyze the ester bond in organic phosphorus molecules and cleave inorganic phosphate (PO_4^{3-}) from the organic molecule. The released inorganic phosphate is then transported into the cell via specific transporter proteins (Wang et al., 2024). This key adaptation allows algae to survive under conditions of inorganic phosphate (PO_4^{3-}) deficiency, which is the preferred form of phosphorus for most algae (Harke and Gobler, 2013). In previous reports, we have shown an increase in the cell abundance of the dinoflagellates *Prorocentrum cordatum* and *P. micans* and the haptophyte *Isochrysis galbana* upon glyphosate addition to the medium (Solomonova et al., 2024a; Solomonova et al., 2024b). It was determined that the strategy for utilizing the herbicide is not universal among different algal species. For example, *P. cordatum* is capable of growing using glyphosate as the sole source of phosphorus immediately after it enters the medium. In contrast, *P. micans* utilizes phosphorus from glyphosate after its mineralization by bacteria (Solomonova et al., 2024a). The stimulation of microalgal growth by glyphosate has also been previously reported in (Wang et al., 2016; Zhang et al., 2016; Dabney and Patiño, 2018). The authors also explain the observed effect by the phosphorus content in glyphosate, which is necessary for algal growth.

To elucidate whether the hormesis effect in *T. viridis* and *D. salina* is due to direct uptake of glyphosate as a nutrient substrate or its mineralization by bacterial microflora, we determined the bacterial abundance in the cultures under optimal light conditions. The results are presented in Table 1. In the control sample, the bacterial abundance in the *T. viridis* culture reached a maximum (4.66 ± 0.4 million cells/mL) on day 3 of the experiment. For *D. salina*, steady growth of the bacterial microflora was observed throughout the experiment, reaching 9.1 ± 0.3 million cells/mL on day 9. The observed increase in bacterial abundance in the cultures is associated with the transition of the algae into the stationary growth phase, which is a well-known fact (Kharchuk et al., 2022).

For *T. viridis* at a glyphosate concentration of 350 μg/L, which stimulated algal growth, the bacterial abundance in the culture did not significantly differ from the control throughout the experiment. At 700 μg/L, bacterial abundance already significantly exceeded the values in the control sample. At 1400–2100 μg/L of the herbicide, the bacterial count in the culture media was twice as high as the control values, which is evidently due to the elimination of algal cells at these herbicide concentrations. A similar result was obtained for *D. salina*. A significant increase in bacterial abundance in the culture was observed at glyphosate concentrations above 700 μg/L. In contrast, hormetic algal growth was already observed at 350 μg/L.

Thus, glyphosate addition stimulated bacterial development in both cultures, and the effect intensified with increasing herbicide concentration. The obtained results confirm that a portion of glyphosate is mineralized by bacteria, but this process takes time (Sun et al., 2019; Singh et al., 2020). Since algal growth was observed immediately after the herbicide addition, and

Table 1. Effect of glyphosate on bacterial abundance in the culture suspension under optimal light intensity of 45 μE m^{-2} s^{-1}

Concentration, μg/L	*Tetraselmis* viridis, days				
	0	2	3	5	6
0	1.5 ± 0.2	1.9 ± 0.2	4.7 ± 0.4	4.3 ± 0.5	4.7 ± 0.2
350	1.5 ± 0.2	2 ± 0.1	5.5 ± 0.4	4.4 ± 0.4	5.4 ± 0.2
700	1.5 ± 0.2	3.2 ± 0.2	7.2 ± 0.6	6.2 ± 0.6	6.5 ± 0.5
1400	1.5 ± 0.2	3.4 ± 0.1	7 ± 1.1	7.1 ± 0.8	7.3 ± 0.7
2100	1.5 ± 0.2	4.5 ± 0.5	8.1 ± 1.4	8.3 ± 0.8	9.6 ± 0.6
	Dunaliella salina, days				
	0	2	3	5	6
0	2.2 ± 0.16	3.2 ± 0.4	5.8 ± 0.7	7.1 ± 0.9	9.1 ± 0.3
350	2.2 ± 0.16	3.5 ± 0.12	6.3 ± 0.81	8.3 ± 0.7	10.1 ± 1.1
700	2.2 ± 0.16	4.2 ± 0.17	8.3 ± 0.62	8.9 ± 1	10.7 ± 0.9
1400	2.2 ± 0.16	5.1 ± 0.2	8.8 ± 1.07	9.7 ± 0.9	12.1 ± 1.2
2100	2.2 ± 0.16	5.9 ± 0.4	9.1 ± 1.2	13 ± 1. 2	13.9 ± 1.5

at 350 μg/L bacterial activity did not differ from the control, we believe that at the initial stage, the algae utilize glyphosate directly. At later growth stages, combined nutrition likely occurs: the algae consume both inorganic phosphorus resulting from mineralization and the organic phosphorus of glyphosate.

3.2. Effect of glyphosate on the physiological and biochemical parameters of the microalgae *T. viridis* and *D. salina* under different light intensities

***Tetraselmis viridis*.**

Analysis of the physiological and biochemical parameters of *T. viridis* after 72 hours of cultivation without glyphosate addition showed that increasing light intensity from 45 to 500 μE m^{-2} s^{-1} exerts a moderate photoinhibitory effect on the cells (Table 2). A decrease in chlorophyll content per cell (FL4) by 13%, a significant reduction in the quantum efficiency of photosynthesis (Fv/Fm) to 0.56 relative units, and an increase in reactive oxygen species production (D_2CFH-DA fluorescence) by 30% were observed. Cell volume did not change, whereas their granularity significantly increased. The side scatter (SS) parameter, characterizing intracellular "complexity," increased by 38%, indicating substantial changes in intracellular morphology.

Changes in the physiological and biochemical parameters of cells under glyphosate exposure correlated with the growth characteristics of the algae. At herbicide concentrations that stimulated growth (350–700 μg/L), the physiological parameters of the cells improved compared to the control under both optimal and high light intensities (Table 2). In particular, a marked reduction in ROS production (by a factor of 2–7) and an increase in cell photosynthetic activity were observed. Fv/Fm values of 0.6–0.7 relative units indicate highly efficient photochemical conversion and the absence of significant physiological stress in the cells at these glyphosate concentrations (Maxwell and Johnson, 2000).

At 1400 and 2100 μg/L, the inhibitory effect of glyphosate on growth was accompanied by a deterioration in cellular parameters. Under optimal light intensity, signs of acute toxic effects were observed in the algae: a decrease in photosynthetic activity (Fv/Fm = 0.47–0.53 relative units, rETR = 0.12–0.16 relative units), an increase in ROS production (2–3 times higher than the control), a decrease in specific chlorophyll content, and an increase in cell granularity (SS = 43–49 relative units). Increasing the light intensity enhanced the toxic effect of the herbicide on the algae. Thus, at 1400 μg/L glyphosate and a high light intensity of 500 μE m^{-2} s^{-1}, a critical depression of photosynthesis was observed in *T. viridis*: Fv/Fm decreased to 0.41 relative units, and rETR to 0.11 relative units. At the

Table 2. – Effect of glyphosate on the physiological and biochemical parameters of *Tetraselmis viridis* and *Dunaliella salina* at a light intensity of 45 μE m^{-2} s^{-1} (blue numbers) and 500 μE m^{-2} s^{-1} (red numbers) after 72 hours of cultivation. Data are presented as mean ± standard error (SE).

Glyphosate μg·L^{-1}	FL4 r.u.	FS r.u.	SS r.u.	Fv/Fm	rETR. r.u.	D2CFH-DA. r.u.
Tetraselmis viridis						
0	112 ± 3 98 ± 5	20 ± 2 21 ± 2	30 ± 2 48 ± 5	0.61 0.56	0.2 0.16	110 ± 12 158 ± 17
350	113 ± 5 93 ± 7	22 ± 3 23 ± 2	28 ± 1 71 ± 7	0.65 0.68	0.22 0.17	56 ± 7 23 ± 3
700	126 ± 4 88 ± 5	21 ± 3 23 ± 3	26 ± 0.7 32 ± 4	0.7 0.6	0.21 0.17	19 ± 1 29 ± 4
1400	110 ± 7 81 ± 4	22 ± 2 27 ± 3	43 ± 0.5 51 ± 3	0.53 0.41	0.16 0.11	210 ± 11 348 ± 13
2100	100 ± 9 -	22 ± 3 -	49 ± 0.7 -	0.47 -	0.12 -	311 ± 10 -
Dunaliella salina						
0	52 ± 5 34 ± 3	19 ± 3 21 ± 2	47 ± 5 57 ± 7	0.72 0.52	0.19 0.12	107 ± 10 138 ± 15
350	54 ± 9 30 ± 2	21 ± 3 20 ± 3	45 ± 4 52 ± 8	0.69 0.56	0.18 0.13	95 ± 8 190 ± 22
700	56 ± 6 38 ± 3	21 ± 3 21 ± 2	40 ± 3 50 ± 5	0.7 0.56	0.17 0.15	85 ± 7 240 ± 17
1400	58 ± 5 46 ± 5	19 ± 3 22 ± 3	40 ± 3 44 ± 6	0.68 0.63	0.17 0.15	23 ± 3 42 ± 5
2100	58 ± 7 48 ± 3	21 ± 2 29 ± 3	38 ± 2 80 ± 9	0.66 0.26	0.13 0.05	19 ± 2 264 ± 22

Note: D_2CFH-DA — fluorescence of D_2CFH-DA at 525 nm wavelength, reflects the production of reactive oxygen species (ROS) in cells; FL4 — autofluorescence of chlorophyll a per cell at 680 nm wavelength; FS — forward scatter (cell volume); SS — side scatter (granularity); Fv/Fm — efficiency of light energy use by the photosystem II photosynthetic complex; rETR — relative electron transport rate; r.u. — relative units.

same time, D_2CFH-DA fluorescence, which is proportional to ROS production in the cells, sharply increased to 348 ± 13 relative units. At a glyphosate concentration of 2100 μg/L and high light intensity, algal death was observed."

Dunaliella salina.

The lighting regime during cultivation caused pronounced differences in the physiological parameters of *D. salina*, which were associated with cell photoacclimation processes. In particular, after 72 hours of growth at high light intensity without glyphosate addition, a decrease in cellular chlorophyll content, quantum efficiency of photosynthesis, and relative electron transport rate by a factor of 1.4–1.6 was observed. A tendency toward increased cell granularity (SS) and ROS production was noted, indicating moderate oxidative stress and activation of antioxidant defense mechanisms.

At 350 and 700 μg/L, despite hormetic cell growth, their physiological parameters did not differ significantly from the control. Only an increase in ROS production at high light intensity was observed. The best physiological parameters of the cells were observed at 1400 μg/L glyphosate. Under both optimal and high light intensities, the cells were characterized by high photosynthetic activity (Fv/Fm = 0.63–0.68 r.u., rETR = 0.15–0.17 r.u.), high specific chlorophyll content (FL4 = 46–58 r.u.), low cell granularity (SS = 40–44 r.u.), and low ROS production (D_2CFH-DA fluorescence was recorded in the range of 23–42 r.u.). These data indicate that a high concentration of glyphosate creates favorable conditions for the growth of *D. salina*. At 2100 μg/L and optimal light intensity, the resistance of *D. salina* to herbicide exposure was maintained: FL4 remained at 58.7 ± 7.0 r.u., Fv/Fm at 0.66 r.u., rETR at 0.13 r.u., and ROS production remained low (19 ± 2 r.u.). Under high light intensity, conversely, critical inhibition of cell physiological parameters was observed. Fv/Fm and rETR values decreased to 0.26 and 0.05, respectively, indicating almost complete suppression of photosynthesis. At the same time, ROS generation increased many times over, reaching 264 ± 22 r.u., indicating a rapid increase in oxidative stress and insufficiency of cellular compensatory mechanisms.

The results of the study showed that both algal species have a high bioremediation potential, as they are capable of removing glyphosate from the medium and using it as a nutrient substrate for growth. However, the efficiency of herbicide removal varies depending on the abiotic conditions of algal cultivation. The obtained data indicate a complex interaction between light intensity and herbicide load. Light acts as a modulator of cellular metabolic activity: at moderate glyphosate concentrations, high light intensity enhances growth stimulation in *T. viridis*, whereas at high concentrations, light stress potentiates the toxic effect of the herbicide, reducing the lethal threshold for both species, but to a greater extent for *T. viridis*. *D. salina* demonstrates the ability to remove high concentrations of the herbicide (1400–2100 μg/L) from the medium, which exert acute toxic effects on *T. viridis*. These differences are important to consider when developing technologies for the post-treatment of waters contaminated with herbicides. The results indicate the feasibility of using *T. viridis* for the rapid removal of low and moderate doses of glyphosate (up to 700 μg/L), whereas *D. salina* is more effective for the removal of high concentrations. Furthermore, the presented data underscore the necessity of considering abiotic factors in the environmental forecasting of the consequences of glyphosate pollution in water bodies.

4. Conclusion

Glyphosate stimulates the growth of *T. viridis* and *D. salina*, which is expressed in high photosynthetic activity of the cells, low levels of oxidative stress, and increased biomass. The observed hormesis effect is associated with the ability of the algae to use glyphosate as a source of mineral nutrition, making them potential targets for bioremediation of waters contaminated with the herbicide. Light intensity acts as a key modulator of algal sensitivity to the pollutant: increased light intensity accelerates metabolic processes in the cells, potentiating both the stimulatory and toxic effects of glyphosate. The feasibility of using *T. viridis* for the rapid removal of low and moderate doses of glyphosate (up to 700 μg/L) has been demonstrated. *D. salina*, in turn, is characterized by a wider amplitude of adaptation to the combined effects of herbicide load and light stress, which allows this species to be used for the removal of high concentrations of glyphosate from waters.

Acknowledgements

The study was supported by a grant from the Russian Science Foundation No. 26-26-20041 "Using the potential of authentic microalgae strains from the Sevastopol region for bioremediation of aquatic ecosystems from herbicides and antibiotics" with the support of the Government of Sevastopol.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Ethics approval

This study does not require ethics committee approval because the organism under study is a microalga.

References

Amit, Chandra R., Ghosh U.K., Nayak J.K. et al. 2017. Phycoremediation potential of marine microalga *Tetraselmis indica* on secondary treated domestic sewage for nutrient removal and biodiesel production. Environmental Science and Pollution Research 24(26): 20868–20875. DOI: 10.1007/s11356-017-9734-6

Battaglin W.A., Meyer M.T., Kuivila K.M. et al. 2014. Glyphosate and its degradation product AMPA occur frequently and widely in US soils, surface water, groundwater, and precipitation. JAWRA Journal of the American Water Resources Association 50: 275–290. DOI: 10.1111/jawr.12159

Borovkov A.B., Gudvilovich I.N., Avsiyan A.L. et al. 2020. Scale-up of *Dunaliella salina* cultivation: from strain selection to open ponds. Journal of Applied Phycology 32(3): 1545–1558. DOI: 10.1007/s10811-020-02104-5

Cáceres T.P., Megharaj M., Naidu R. et al. 2008. Biodegradation of the pesticide fenamiphos by ten different species of green algae and cyanobacteria. Current Microbiology 57(6): 643–646. DOI: 10.1007/s00284-008-9293-7

Chorus I., Welker M. 2021. Toxic cyanobacteria in water: A guide to their public health consequences, monitoring and management (2nd ed.). CRC Press. DOI: 10.1201/9781003081449

Dabney B.L., Patiño R. et al. 2018. Low-dose stimulation of growth of the harmful alga, *Prymnesium parvum*, by glyphosate and glyphosate-based herbicides. Harmful Algae 80: 130–139. DOI: 10.1016/j.hal.2018.11.004

Dyhrman S.T., Ruttenberg K.C. et al. 2006. Presence and regulation of alkaline phosphatase activity in eukaryotic phytoplankton from the coastal ocean: Implications for dissolved organic phosphorus remineralization. Limnology and Oceanography 51(3): 1381–1390. DOI: 10.4319/lo.2006.51.3.1381

Fang T.Y., Praveena S.M., deBurbure C. et al. 2016. Analytical techniques for steroid estrogens in water samples - a review. Chemosphere 165: 358–368. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2016.09.051

Gattás F., Vinocur A., Graziano M. et al. 2016. Differential impact of *Limnoperna fortunei*-herbicide interaction between Roundup Max® and glyphosate on freshwater microscopic communities. Environmental Science and Pollution Research 23: 18869–18882. DOI: 10.1007/s11356-016-7005-6

González R., García-Balboa C., Rouco M. et al. 2012. Adaptation of microalgae to lindane: a new approach for bioremediation. Aquatic Toxicology 109: 25–32.

Goswami R.K., Agrawal K., Mehariya S. et al. 2022. Current perspective on wastewater treatment using photobioreactor for *Tetraselmis* sp.: an emerging and foreseeable sustainable approach. Environmental Science and Pollution Research 29(41): 61905–61937. DOI: 10.1007/s11356-021-16860-5

Harke M.J., Gobler C.J. et al. 2013. Global transcriptional responses of the toxic cyanobacterium, *Microcystis aeruginosa*, to nitrogen stress, phosphorus stress, and growth on organic matter. PLoS One 8(7): e69834. DOI: 10.1371/journal.pone.0069834

Kang H.J., Lim M.Y., Kwon J.H. et al. 2012. Effects of adsorption onto silica sand particles on the hydrolysis of tetracycline antibiotics. Journal of Environmental Monitoring 14(7): 1853–1859. DOI: 10.1039/C2EM10961A

Kharchuk I.A., Rylkova O.A., Beregovaya N.M. et al. 2022. State of cyanobacteria *Arthrospira platensis* and of associated microflora during long-term storage in the state of anhydrobiosis. Microbiology 91(6): 704–712. DOI: 10.1134/S0026261722601786

Le V.V., Tran Q.G., Ko S.R. et al. 2023. How do freshwater microalgae and cyanobacteria respond to antibiotics? Critical Reviews in Biotechnology 43(2): 191–211. DOI: 10.1080/07388551.2022.2026870

Liu J., Qi M., Qiu X. et al. 2025. Physiological characteristics of microalgae in response to glyphosate and tetracycline regulated by exogenous melatonin. Algal Research 89: 104081. DOI: 10.1016/j.algal.2025.104081

Malakhova L.V., Voitsekhovskaia V.V., Malakhova T.V. et al. 2023. organochlorine pollutants in components of the black sea coastal areas ecosystem of crimea from 2010 to 2022. oceanology 63(Suppl 1): S165-S173. DOI: 10.1134/S0001437023070093

Marie D., Partensky F., Jacquet S. et al. 1997. Enumeration and cell cycle analysis of natural populations of marine picoplankton by flow cytometry using the nucleic acid stain SYBR Green I. Applied and Environmental Microbiology 63: 186–193. DOI: 10.1128/aem.63.1.186-193.1997

Maršálek B., Rojíčková R. et al. 1996. Stress factors enhancing production of algal exudates: a potential self-protective mechanism? Zeitschrift für Naturforschung C 51(9-10): 646–650. DOI: 10.1515/znc-1996-9-1009

Maxwell K., Johnson G.N. et al. 2000. Chlorophyll fluorescence—a practical guide. Journal of Experimental Botany 51(345): 659–668. DOI: 10.1093/jxb/51.345.659

Mercurio P., Flores F., Mueller J.F. et al. 2014. Glyphosate persistence in seawater. Marine Pollution Bulletin 85(2): 385–390. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2014.01.021

Naorbe M.C., Serrano Jr A.E. et al. 2018. Effects of heavy metals on cell density, size, specific growth rate and chlorophyll a of *Tetraselmis tetrathele* under controlled laboratory conditions. Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation 11(3): 589–597.

Oren A. et al. 2005. A hundred years of *Dunaliella* research: 1905–2005. Saline Systems 1(1): 2. DOI: 10.1186/1746-1448-1-2

Pereira H., Páramo J., Silva J. et al. 2018. Scale-up and large-scale production of Tetraselmis sp. CTP4 (Chlorophyta) for CO2 mitigation: From an agar plate to 100-m3 industrial photobioreactors. Scientific Reports 8(1): 1–11. DOI: 10.1038/s41598-018-23340-3

Pereira H., Silva J., Santos T. et al. 2019. Nutritional potential and toxicological evaluation of Tetraselmis sp. CTP4 microalgal biomass produced in industrial photobioreactors. Molecules 24(17): 3192. DOI: 10.3390/molecules24173192

Pérez-Rama M., Alonso J.A., López C.H. et al. 2002. Cadmium removal by living cells of the marine microalga *Tetraselmis suecica*. Bioresource Technology 84(3): 265–270. DOI: 10.1016/S0960-8524(02)00045-7

Pizarro H., Vera M.S., Vinocur A. et al. 2016. Glyphosate input modifies microbial community structure in clear and turbid freshwater systems. Environmental Science and Pollution Research 23: 5143–5153. DOI: 10.1007/s11356-015-5748-0

Pogosyan S.I., Gal'chuk S.V., Kazimirko Yu.V. et al. 2009. The use of the fuorimeter "MEGA-25" to determine the amount of phytoplankton and assess the state of its photosynthetic apparatus. Water: Chemistry and Ecology 6: 34–40.

Qiu H., Geng J., Ren H. et al. 2013. Physiological and biochemical responses of *Microcystis aeruginosa* to glyphosate and its Roundup® formulation. Journal of Hazardous Materials 248: 172–176. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2012.12.033

Ramanan R., Kim B.H., Cho D.H. et al. 2016. Algae–bacteria interactions: evolution, ecology and emerging applications. Biotechnology Advances 34(1): 14–29. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2015.12.003

Romano-Armada N., Rajal V.B. et al. 2022. Following the steps towards glyphosate bioremediation. How close are we to field success? In: Siddiqui S., Meghvansi M.K., Chaudhary K.K. (Eds.) Pesticides bioremediation. Springer, Cham. DOI: 10.1007/978-3-030-97000-05

Semple K.T., Cain R.B., Schmidt S. et al. 1999. Biodegradation of aromatic compounds by microalgae. FEMS Microbiology Letters 170(2): 291–300. DOI: 10.1111/j.1574-6968.1999.tb13386.x

Sethunathan N., Megharaj M., Chen Z.L. et al. 2004. Algal degradation of a known endocrine disrupting insecticide, α-endosulfan, and its metabolite, endosulfan sulfate, in liquid medium and soil. Journal of Agricultural and Food Chemistry 52(10): 3030–3035. DOI: 10.1021/jf035173x

Singh S., Kumar V., Gill J.P.K. et al. 2020. Herbicide glyphosate: toxicity and microbial degradation. International Journal of Environmental Research and Public Health 17(20): 7519. DOI: 10.3390/ijerph17207519

Solomonova E., Shoman N., Akimov A. et al. 2024. Differential responses of diatom and dinophyte microalgae to the presence of glyphosate herbicide in the medium. Regional Studies in Marine Science 73: 103514. DOI: 10.1016/j.rsma.2024.103514

Solomonova E.S., Shoman N.Yu., Akimov A.I. et al. 2024. Hormesis effect of the herbicide glyphosate on growth and lipid synthesis in the microalga Isochrysis galbana, an object of industrial cultivation. Aquaculture International 32(6): 7253–7261. DOI: 10.1007/s10499-024-01512-5

Sun M., Li H., Jaisi D.P. et al. 2019. Degradation of glyphosate and bioavailability of phosphorus derived from glyphosate in a soil-water system. Water Research 163: 114840. DOI: 10.1016/j.watres.2019.07.007

Tang L., Wang J., Zeng G. et al. 2016. Enhanced photocatalytic degradation of norfloxacin in aqueous Bi2WO6 dispersions containing nonionic surfactant under visible light irradiation. Journal of Hazardous Materials 306: 295–304. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2015.12.044

Vera M.S., Di Fiori E., Lagomarsino L. et al. 2012. Direct and indirect effects of the glyphosate formulation Glifosato Atanor® on freshwater microbial communities. Ecotoxicology 21: 1805–1816. DOI: 10.1007/s10646-012-0915-2

Vera M.S., Lagomarsino L., Sylvester M. et al. 2010. New evidences of Roundup® (glyphosate formulation) impact on the periphyton community and the water quality of freshwater ecosystems. Ecotoxicology 19: 710–721. DOI: 10.1007/s10646-009-0446-7

Wang H., Joseph J.A. 1999. Quantifying cellular oxidative stress by dichlorofluorescein assay using microplate reader. Free Radical Biology and Medicine 27(5-6): 612–616 DOI: 10.1016/S0891-5849(99)00107-0

Wang C., Lin X., Li L. et al. 2016. Differential growth responses of marine phytoplankton to herbicide glyphosate. PLoS ONE 11: e0151633. DOI: 10.1371/journal.pone.0151633

Wang C., Li J., Li S. et al. 2024. Effects and mechanisms of glyphosate as phosphorus nutrient on element stoichiometry and metabolism in the diatom Phaeodactylum tricornutum. Applied and Environmental Microbiology 90(2): e02131-23. DOI: 10.1128/aem.02131-23

Wijffels R.H., Barbosa M.J. 2010. An outlook on microalgal biofuels. Science 329(5993): 796–799. DOI: 10.1126/science.1189003

Zhang H., Hu C., Jia X. et al. 2012. Characteristics of γ-hexachlorocyclohexane biodegradation by a nitrogen-fixing cyanobacterium, Anabaena azotica. Journal of Applied Phycology 24(2): 221–225. DOI: 10.1007/s10811-011-9670-5

Zhang Y., Habteselassie M.Y., Resurreccion E.P. et al. 2014. Evaluating removal of steroid estrogens by a model alga as a possible sustainability benefit of hypothetical integrated algae cultivation and wastewater treatment systems. ACS Sustainable Chemistry & Engineering 2: 2544–2553. DOI: 10.1021/sc5004538

Zhang Q., Zhou H., Li Z. et al. 2016. Effects of glyphosate at environmentally relevant concentrations on the growth of and microcystin production by Microcystis aeruginosa. Environ. Monit. Assess. 188: 1–7. DOI: 10.1007/s10661-016-5627-2

Оригинальная статья

Потенциал зеленых микроводорослей *Tetraselmis viridis* и *Dunaliella salina* для биоремедиации водной экосистемы от органофосфорного гербицида глифосата

Соломонова Е.С.*, Шоман Н.Ю., Акимов А.И., Боровков А.Б.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр "Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского Российской академии наук", Севастополь, Россия

АННОТАЦИЯ. Сельскохозяйственная деятельность в Крыму и Севастополе приводит к загрязнению водных экосистем гербицидами, в частности глифосатом. Проведена сравнительная оценка физиологического отклика зеленых микроводорослей *Tetraselmis viridis* и *Dunaliella salina* на воздействие глифосата (0–2100 мкг/л) в условиях оптимальной (45 мкЭ $м^{-2}$ $с^{-1}$) и высокой (500 мкЭ $м^{-2}$ $с^{-1}$) освещённостях. Оценена динамика численности водорослей, физиолого-биохимические параметры клеток (содержание хлорофилла *a*, эффективность работы фотосинтетического аппарата, размеры и гранулярность, продукция активных форм кислорода) и численности ассоциированных бактерий с использованием методов микроскопии, проточной цитометрии и PAM-флуорометрии. Установлено, что глифосат стимулирует рост *T. viridis* и *D. salina*, что выражается в высокой фотосинтетической активности клеток, низком уровне окислительного стресса и увеличении биомассы. При оптимальной освещенности у *T. viridis* наблюдается стимуляция роста при низких и средних концентрациях глифосата (до 700 мкг/л) и угнетение при высоких дозах. *D. salina*, напротив, проявляет исключительную устойчивость в широком диапазоне концентраций гербицида (до 2100 мкг/л). Высокая освещённость усиливает как стимулирующее, так и токсическое действие глифосата на *T. viridis*, а для *D. salina* сужает диапазон толерантности, снижая порог токсичности клеток к гербициду. Показано, что добавление глифосата стимулирует рост ассоциированных бактерий. Однако интенсивное развитие водорослей опережает рост бактериальной популяции, что указывает на прямое потребление глифосата водорослями как источника питания. Способность обоих видов к прямому метаболизму глифосата и возможность управления их состоянием через световой режим определяют высокий потенциал применения данных видов водорослей в системах биологической очистки сточных вод от гербицидных загрязнений. Показана целесообразность применения *T. viridis* для быстрого удаления низких и умеренных доз глифосата (до 700 мкг/л). *D. salina* может использоваться для очистки вод от высоких концентраций глифосата.

Ключевые слова: гербициды, глифосат, микроводоросли, биоремедиация, гормезисный рост

Для цитирования: Соломонова Е.С., Шоман Н.Ю., Акимов А.И., Боровков А.Б. Потенциал зеленых микроводорослей Tetraselmis viridis и Dunaliella salina для биоремедиации водной экосистемы от органофосфорного гербицида глифосата // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - С. 470-487. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-470

1. Введение

В Крыму и Севастополе сельскохозяйственная деятельность создает значительную нагрузку на водные экосистемы. Основные реки Крыма — Салгир, Альма, Кача и Чёрная — несут различного рода загрязнители в Черное и Азовское моря, включая акваторию у побережья Севастополя. Ранее было показано, что через сельскохозяйственный сток, а также подземные воды, проходящие под районами интенсивного земледелия (например, Байдарская долина), в море поступают значительные количества пестицидов и биогенных элементов (Malakhova et al., 2023). Гербициды на основе глифосата представляют собой наиболее распространенные в мировой практике неселективные послевсходовые гербициды широкого спектра действия, применяемые для контроля однолетних и многолетних сорных растений в агроценозах, приусадебных и декоративных садоводствах, а также в водных экосистемах

*Автор для переписки. Адрес e-mail: solomonov83@mail.ru (Е.С. Соломонова)

Поступила: 04 июня 2026;
Принята после доработки: 28 июля 2026;
Опубликована online: 28 августа 2026

© Автор(ы) 2026. Эта работа распространяется под международной лицензией Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.

(Battaglin et al., 2014). В течение последних десятилетий наблюдался значительный рост объемов потребления глифосата, что позволило ему занять позицию одного из наиболее востребованных агрохимикатов в глобальном масштабе (Mercurio et al., 2014). Механизм действия глифосата заключается в конкурентном ингибировании фермента 5-енолпирувилшикимат-3-фосфатсинтазы (EPSPS), катализирующего одну из ключевых реакций в шикиматном пути биосинтеза ароматических аминокислот (Romano-Armada and Rajal, 2022).

В настоящее время основными подходами к удалению пестицидов из водных объектов являются физико-химические и биологические методы. Среди физико-химических способов адсорбция на пористых материалах характеризуется высокой эффективностью элиминации целевых соединений, однако сопряжена со значительными эксплуатационными затратами (Le et al., 2023). Методы окисления и фотокаталитической деградации демонстрируют высокую результативность в отношении деструкции органических поллютантов, но требуют применения значительных количеств катализаторов и химических реагентов, что не только повышает стоимость обработки, но и несет риски вторичного загрязнения окружающей среды (Kang et al., 2012; Tang et al., 2016). Среди биологических методов широкое распространение получили системы с активным илом (Liu et al., 2025).

Перспективным направлением биологической очистки сточных вод является использование микроводорослей (Ramanan et al., 2016; Semple et al., 1999). Данный подход обеспечивает не только удаление загрязняющих веществ, но и секвестрацию углекислого газа, а также характеризуется высокой ресурсоэффективностью, что обусловливает его значительный потенциал (Cáceres et al., 2008). Авторами в работе (Cáceres et al., 2008) было показано, что десять различных видов микроводорослей и цианобактерий способны к окислению нематоцида фенамифоса, относящегося к группе фосфорорганических соединений, при этом *Chlorella* sp. и *Anabaena* sp. обеспечивали детоксикацию 99% данного вещества. Эта же исследовательская группа установила, что пресноводная микроводоросль *P. subcapitata*, а также почвенная водоросль *Chlorococcum* sp. накапливают и трансформируют фенамифос на 100% и 62% соответственно, что позволяет предположить более высокую эффективность при использовании жидкой суспензии (Cáceres et al., 2008). Цианобактерия *Anabaena azotica*, выделенная с рисовых полей, проявила толерантность и потенциал к биоремедиационной деградации γ-ГХЦГ (гамма-гексахлорциклогексана, препарат, содержащий 99–100% этого вещества, широко известен как линдан), удаляя почти 50% этого соединения в течение 5 суток (Zhang et al., 2012). В другом исследовании была зафиксирована случайная мутация, благодаря которой вид *S. intermedius* приобрел устойчивость к линдану, а также продемонстрировал потенциал для его удаления из водных систем (González et al., 2012). Виды *Chlorococcum* sp. и *Scenedesmus* sp. оказались способны к деградации эндосульфана как в жидкой среде, так и в почве (Sethunathan et al., 2004). Однако не все виды водорослей обладают способностью к деградации гербицидов. Как ранее отмечалось в научной литературе, их реакции на воздействие глифосата демонстрируют высокую видоспецифичность (Wang et al., 2016; Solomonova et al., 2024a). Ключевое значение в биоремедиации водных объектов от глифосата имеют не просто толерантные к гербициду виды, а именно виды, способные его утилизировать. Многочисленными исследованиями зарегистрирован массовый рост цианобактерий при внесении глифосата в культуральную среду (Chorus and Welker, 2021; Qiu et al., 2013), что указывает на возможность использования этих микроорганизмов в качестве деструкторов. В работах (Vera et al., 2012; Gattás et al., 2016; Vera et al., 2010; Pizarro et al., 2016; Wang et al., 2016) также показан горметический эффект глифосата для различных представителей фитопланктона, выражающийся в стимуляции ростовых процессов при определенных концентрациях, что может быть использовано для интенсификации биоремедиации.

Штаммы рода *Tetraselmis* привлекают внимание исследователей благодаря высокой гало- и эвритермальности, эффективному удалению биогенных элементов (Amit et al., 2017), а также способности накапливать липиды и биологически активные соединения, что делает их перспективными для циркулярной биоэкономики (Pereira et al., 2018; 2019; Goswami et al., 2022). Данные микроводоросли успешно применяются для очистки различных типов сточных вод (городских, муниципальных, промышленных, аквакультуры) и ремедиации тяжёлых металлов (Naorbe and Serrano, 2018; Pérez-Rama et al., 2002), а полученная биомасса может служить сырьём для производства биотоплива (Goswami et al., 2022). Зеленые микроводоросли рода *Dunaliella* также могут использоваться для очистки сточных вод благодаря высокой способности ассимилировать питательные вещества из среды (Oren, 2005) Ранее проведённые исследования также выявили потенциал биомассы *Dunaliella* в качестве альтернативы ископаемому топливу, поскольку для преодоления стрессовых условий, таких как недостаток питательных веществ, эти микроводоросли накапливают химическую энергию в форме нейтральных липидов (триглицеридов) (Wijffels and Barbosa, 2010).

Однако, не смотря на то, что представители родов *Tetraselmis* и *Dunaliella* зарекомендовали себя как эффективные биоремедиационные агенты, их потенциал в отношении деградации и удаления глифосата остаётся практически не изученным. Между тем эффективность биоремедиации пестицидов с использованием микроводорослей определяется множеством факторов: токсичностью и концентрацией поллютанта, характером загрязнения (локализация), а также абиотическими параметрами среды — температурой, pH, освещённостью и доступностью воды, которые в совокупности влияют на способность автотрофных микроорганизмов накапливать или трансформировать ксенобиотики (Zhang et al., 2014; Fang et al., 2016). В связи с этим

выявление устойчивости и биоремедиационного потенциала зеленых микроводорослей в отношении глифосата представляет собой актуальное и перспективное направление, требующее дальнейших экспериментальных исследований, особенно в контексте комплексного воздействия абиотических факторов среды и антропогенных поллютантов.

Основная цель исследования — оценить устойчивость и биоремедиационный потенциал микроводорослей родов *Tetraselmis* и *Dunaliella* по отношению к глифосату в условиях оптимальной и высокой освещенности для обоснования их применения в технологиях доочистки водных сред от загрязнения гербицидами.

2. Материал и методы

2.1. Материалы и культивирование водорослей

Альгологически чистые культуры зеленых микроводоросли *Dunaliella salina* (Teod.), штамм IBSS-1 и *Tetraselmis viridis* (Rouchijajnen), R.E. Norris, Hori и Chihara, были получена из коллекции живых культур морских планктонных микроводорослей центра коллективного пользования “Гидробионты мирового океана” (WDCM № 1201) of A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS (IBSS). До эксперимента культуры предварительно находились в стационарной фазе роста, что позволило оценить способность *D. salina* и *T. viridis* расти за счет глифосата как единственного источника питания. В ходе эксперимента водоросли выращивали на чистой стерилизованной морской воде без добавления питательной среды. Для этого использовали воду из открытой части Черного моря (соленость 18 ‰), которую предварительно фильтровали через стекловолокнистые фильтры Whatman (GF/C) (Sartorius Stedim Biotech, Франция) с диаметром пор 1 мкм и стерилизовали 3 раза при 85°C. Начальная плотность культур во всех вариантах эксперимента составляла $28 \cdot 10^4$ кл./мл. Водоросли культивировали при оптимальной (45 мкЭ $м^{-2}$ $с^{-1}$) и высокой (500 мкЭ $м^{-2}$ $с^{-1}$) интенсивностях света, температуре 20 °C и свето-темновом периоде 14/10 ч. Для освещения колб использовалась световая решетка со светодиодами холодного света. Уровень освещённости определяли зондирующим 4π датчиком квантометра QSL 2101 (Biospherical InstrumentsInc., США). Барботаж культур осуществляли аквариумными компрессорами, pH культуральной среды составляла 8,2–8,5.

2.2. Методика эксперимента

В ходе экспериментов исследовалось влияние гербицида глифосата на рост, цитометрические и флуоресцентные параметры *D. salina* и *T. viridis.* Для приготовления растворов токсикантов использовали технический глифосат (CAS 1071-83-6, 95% purity), который был получен от Hubei Novcare Pharmaceutical Co., Ltd. (Китай). Добавка глифосата в экспериментальные колбы составила 350, 700, 1050 (только для *T. viridis*), 1400 и 2100 мкг/л. Выбор концентраций основан на результатах предварительных экспериментов, позволивших установить диапазон токсического действия гербицида (Solomonova et al., 2024a; Solomonova et al., 2024b). Водоросли, культивируемые без глифосата, использовались как контроль. Каждый вариант эксперимента дублировался в 3 повторностях. После внесения глифосата водорослей культивировали в накопительном режиме при двух интенсивностях света в течение 6 суток.

2.3. Методы анализа

Цитометрический анализ проб. Численность водорослей в пробах определяли методом проточной цитометрии по прямому светорассеянию (FS) и автофлуоресценции хлорофилла отдельных клеток в красной спектральной области (FL4, 655 нм). Анализ проб проводили на проточном цитометре MACS Quant Analyzer (Miltenyi Biotec, Германия) в центре коллективного пользования «Спектрометрия и хроматография» ФИЦ ИнБЮМ. Для обработки данных использовали FCS Express 7 Research Edition software.

Продукцию активных форм кислорода оценивали по флуоресценции 2–7-дихлорфлуоресцеиндиацетата (H2DCF-DA; Merck, Германия) на цитограммах по прямому светорассеянию FS и флуоресценции клеток на длине волны 525 нм. Предварительно вычитали значение автофлуоресценции клеток *D. salina* и *T. viridis* в данной области спектра. Окрашивание водорослей проводили в течение 35 минут в темноте после добавления 5 мкл рабочего раствора H2DCF-DA (5 мг $мл^{-1}$) на 1 мл культуральной суспензий непосредственно перед измерением (Wang and Joseph, 1999).

Численность бактерий определяли в пробах, окрашенных SYBR Green I (Molecular Probes, США), с помощью гейтинга популяции клеток на 2-параметрических цитограммах прямого светорассеяния (FS) и флуоресценции SYBR Green I в зелёной области спектра (канал FL1, 525 нм) на безразмерных логарифмических шкалах. Окраску бактерий SYBR Green I проводили в темноте в течение 40 мин непосредственно перед измерением в соответствии с (Marie et al., 1997).

Метод PAM-флуориметрии. Измерение флуоресценции пигментного комплекса водорослей проводили на флуориметре с импульсной модуляцией возбуждающего света на длине волны 455 нм «Мега–25м» (ООО «Генная и клеточная терапия», Россия). Подробное описание методики и характеристики данного флуориметра представлены в работе (Pogosyan et al., 2009). Эффективность работы фотосинтетического аппарата водорослей после адаптации клеток к темноте (Fv/Fm) рассчитывали по формуле:

$$\frac{Fv}{Fm} = \frac{Fm - Fo}{Fm},$$

где Fo – величина флуоресценции хлорофилла *a* при открытых реакционных центрах; Fm – макси-

мальная флуоресценция хлорофилла *a* при закрытых реакционных центрах.

Относительную максимальную скорость электронного транспорта фотосистемы 2 при интенсивности света I = 500 мкЭ·м$^{-2}$·с$^{-1}$ и длительности экспозиции 40 с рассчитывали по формуле:

$$rETR = \frac{Fm' - Fo'}{Fm'} \cdot I,$$

где Fm’ – максимальная флуоресценция хлорофилла *a* на фоне постоянного освещения; F0’ – нулевая флуоресценция хлорофилла *a* при постоянном освещении.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программ Microsoft Office и Golden Software Grapher-16. Точки на графиках и в таблице представляет собой среднее значение 3 повторностей. Бары обозначают стандартное отклонение полученных значений. Значимость различий между выборками оценивалась с помощью t-критерия Стьюдента при $p < 0,05$.

3. Результаты и обсуждение

3.1. Сравнительный анализ влияния глифосата на рост *T. viridis* и *D. salina* и ассоциированной с ними микрофлоры при разной освещенности

Проведена оценка совместного влияния гербицида глифосата (0–2100 мг/л) и уровня освещенности (оптимальный / высокий свет) на динамику численности микроводорослей *T. viridis* и *D. salina*. В контрольных образцах (0 мкг/л глифосата) при оптимальном уровне освещения у *T. viridis* к 6 суткам культивирования наблюдалось снижение численности клеток с 28×10^4 кл./мл до 12×10^4 кл./мл, а у *D. salina* – с 28×10^4 кл./мл до 25×10^4 кл./мл. Это обусловлено переходом культур в стационарную фазу роста, которая сопровождается последующей деградацией водорослей вследствие исчерпания питательных веществ в среде. При выращивании водорослей в условиях высокой освещенности численность клеток *T. viridis* на 6 сутки культивирования снижалась до $7,2 \times 10^4$ кл./мл, тогда как у *D. salina* – до 15×10^4 кл./мл. Такой результат указывает на большую устойчивость *D. salina* к действию высокой освещенности, что согласуется с ранее полученными литературными данными (Borovkov et al., 2020).

Добавление глифосата в концентрации 350-1050 мкг/л в условиях оптимальной освещенности приводило к гормезисному росту клеток *T. viridis*. При этом максимальный прирост численности ($75,2 \times 10^4$ кл./мл) наблюдался при 700 мкг/л глифосата. При концентрации поллютанта 350 мкг/л данная величина достигала 33×10^4 кл./мл, а при 1050 мкг/л - 54×10^4 кл./мл (Рис. 1а). Увеличение интенсивности света до 500 мкЭ м$^{-2}$ с$^{-1}$ приводило к сдвигу гормезисного эффекта в область более низких концентраций глифосата: максимальный прирост численности *T. viridis* (85×10^4 кл./мл) достигался при 350 мг/л глифосата, что на 13% выше значения при оптимальной освещенности (Рис. 1с). При 700 мкг/л глифосата максимальная численность культуры составила 52×10^4 кл./мл, что на

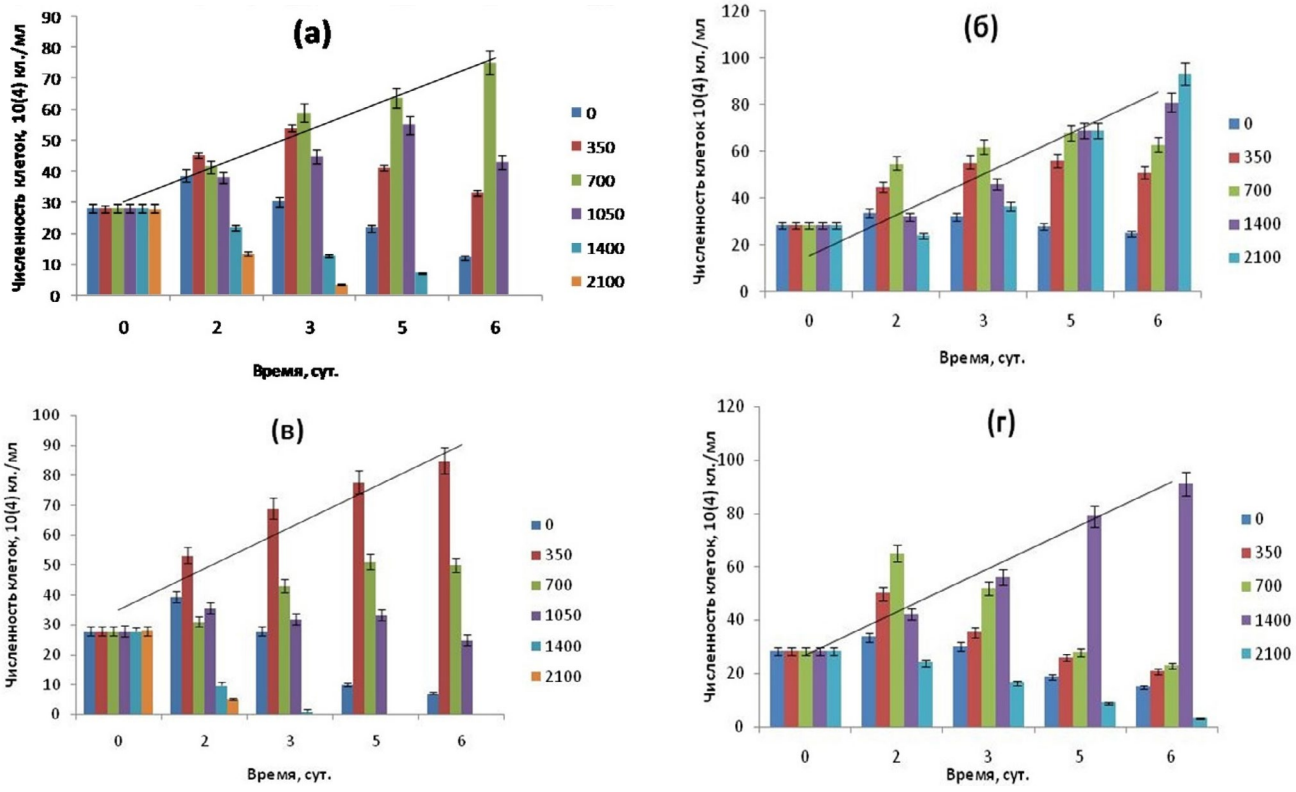


Рис.1. Влияние глифосата на изменение численности клеток *T. viridis* (а, в) и *D. salina* (б, г). а, б – интенсивность света 45 мкЭ м$^{-2}$ с$^{-1}$, в, г – интенсивность света 500 мкЭ м$^{-2}$ с$^{-1}$. Столбцы показывают среднюю (n = 3) плотность клеток (кл./мл) в контрольном образце и для каждой оцененной концентрации глифосата (мкг/л). Полоски ошибок представляют стандартную ошибку.

34% ниже значений при аналогичной концентрации гербицида, но в условиях оптимального освещения. При 1050 мкг/л гербицида, наоборот, наблюдалось постепенное снижение плотности культуральной суспензии до 25×10^4 кл./мл на 6 сутки эксперимента. Высокие дозы глифосата (1400 и 2100 мкг/л) оказывали острое токсическое действие на рост *T. viridis*. При этом выраженность эффекта возрастала при повышении освещенности. Так, при оптимальном уровне света численность *T. viridis* к 6-м суткам культивирования снижалась до $0{,}2\times10^4$ кл./мл и до 0 при 1400 и 2100 мкг/л глифосата соответственно. Тогда как при 500 мкЭ $м^{-2}$ $с^{-1}$ гибель культуры при обоих концентрациях наступала уже на 3 сутки эксперимента. Таким образом, повышение освещенности усиливает как стимулирующий эффект умеренных концентраций гербицида (вероятно, за счет более активного метаболизма и утилизации фосфора из глифосата), так и токсичность высоких доз.

У *D. salina* также наблюдалось стимулирование роста культуры при добавлении глифосата. При оптимальной освещенности отмечена высокая устойчивость клеток к высоким концентрациям гербицида. При 1400 и 2100 мкг/л численность культуры к 6-м суткам достигала 81 и 93×10^4 кл./мл соответственно (Рис. 1б). При 350 и 700 мкг/л глифосата прирост культуры *D. salina* был значительно ниже и составлял $58\text{-}65\times10^4$ кл./мл. При высокой интенсивности света динамика роста *D. salina* существенно изменялась. Абсолютный максимум прироста численности (91×10^4 кл./мл) наблюдался при 1400 мкг/л глифосата. Тогда как при 2100 мкг/л отмечена элиминация культуры (Рис. 1д). При концентрациях 350 и 700 мкг/л численность *D. salina* достигала максимальных значений - 47 и 63×10^4 кл./мл соответственно – уже на 2 сутки эксперимента. При дальнейшем культивировании в этих условиях наблюдалось снижение показателя до $21\text{–}23\times10^4$ кл./мл к 6-м суткам. Данный результат указывает на то, что стимулирующий эффект умеренных доз гербицида в условиях светового стресса сохраняется, но реализуется быстрее благодаря более высокой скорости роста клеток.

Таким образом, глифосат оказывает стимулирующее действие на рост обеих культур - *T. viridis* и *D. salina*. При этом *D. salina* демонстрирует более высокую устойчивость к высоким концентрациям гербицида. Интенсивность света выступает ключевым модулятором чувствительности водорослей: повышенная освещённость ускоряет метаболические процессы, что потенцирует как стимулирующий, так и токсический эффект глифосата.

Очевидно, наблюдаемый эффект гормезиса у *T. viridis* и *D. salina* связан с их способностью использовать глифосат в качестве источника минерального питания, как это было показано ранее с другими видами фототрофных микроорганизмов (Maršálek and Rojíčková, 1996; Qiu et al., 2013). Известно, что многие микроводоросли могут утилизировать растворенные органические соединения фосфора путем гидролиза их внеклеточными ферментами, такими как щелочная фосфатаза (Dyhrman and Ruttenberg, 2006). Некоторые вида микроводорослей при дефиците неорганического фосфата активно синтезирует и выделяет эти ферменты в окружающую среду (Dabney and Patiño, 2018.). Фосфатазы гидролизуют сложноэфирную связь в молекулах органического фосфора и высвобождает неорганический фосфат (PO_4^{3-}) от органической молекулы. Освободившийся неорганический фосфат затем транспортируется в клетку через специфические транспортные белки-переносчики (Wang et al., 2024). Это ключевая адаптация позволяет водорослям выживать в условиях дефицита неорганического фосфата (PO_4^{3-}), который является предпочтительной формой фосфора для большинства водорослей (Harke and Gobler, 2013). В предыдущих отчетах нами показано увеличение численности динофлагеллят *Prorocentrum cordatum* и *P. micans* и гаптофитовой *Isochrysis galbana* при добавлении глифосата в среду (Solomonova et al., 2024a; Solomonova et al., 2024b). При этом было установлено, что стратегия усвоения гербицида не универсальна для разных видов водорослей. К примеру, *P. cordatum* способен расти за счет глифосата как единственного источника фосфора сразу после его попадания в среду. В то время как *P. micans* использует фосфор из глифосата после его минерализации бактериями (Solomonova et al., 2024a). О стимулировании роста микроводорослей глифосатом ранее сообщалось также в работах (Wang et al., 2016; Zhang et al., 2016; Dabney and Patiño, 2018). Наблюдаемый эффект авторы также объясняют содержанием фосфора в глифосате, который необходим для роста водорослей.

Для выяснения вопроса, обусловлен ли гормезисный эффект у *T. viridis* и *D. salina* прямым усвоением глифосата в качестве питательного субстрата или его минерализацией бактериальной микрофлорой, нами была определена численность бактерий в культурах в условиях оптимальной освещённости. Результаты представлены в Таблице 1. В контрольном образце численность бактерий в культуре *T. viridis* достигала максимума ($4{,}66\pm0{,}4$ млн кл./мл) на 3-и сутки эксперимента. У *D. salina* устойчивый рост бактериальной микрофлоры наблюдался на протяжении всего эксперимента и составлял $9{,}1\pm0{,}3$ млн кл./мл на 9 сутки. Наблюдаемое увеличение численности бактерий в культурах связано с переходом водорослей в стационарную фазу роста, что является общеизвестным фактом (Kharchuk et al., 2022).

У *T. viridis* при концентрации глифосата 350 мкг/л, стимулирующей рост водорослей, количество бактерий в культуре достоверно не отличалось от контроля на протяжении всего эксперимента. При 700 мкг/л численность бактерий уже значимо превышала значения в контрольном образце. При 1400-2100 мкг/л гербицида число бактерий в культуральных средах двукратно превышало контрольные значения, что, очевидно, обусловлено элиминацией клеток водорослей при этих концентрациях гербицида. Аналогичный результат получен и с *D. salina*. Достоверное увеличение количества бактерий в культуре отмечено при концентрациях глифо-

Таблица 1. Влияние глифосата на численность бактерий в культуральной суспензии в условиях оптимальной освещенности 45 мкЭ $м^{-2}$ $с^{-1}$

Концентрация мкг/л	*Tetraselmis viridis*, сутки				
	0	2	3	5	6
0	1,5 ± 0,2	1,9 ± 0,2	4,7 ± 0,4	4,3 ± 0,5	4,7 ± 0,2
350	1,5 ± 0,2	2 ± 0,1	5,5 ± 0,4	4,4 ± 0,4	5,4 ± 0,2
700	1,5 ± 0,2	3,2 ± 0,2	7,2 ± 0,6	6,2 ± 0,6	6,5 ± 0,5
1400	1,5 ± 0,2	3,4 ± 0,1	7 ± 1,1	7,1 ± 0,8	7,3 ± 0,7
2100	1,5 ± 0,2	4,5 ± 0,5	8,1 ± 1,4	8,3 ± 0,8	9,6 ± 0,6
	Dunaliella salina, сутки				
	0	2	3	5	6
0	2,2 ± 0,16	3,2 ± 0,4	5. 8 ± 0,7	7,1 ± 0,9	9,1 ± 0,3
350	2,2 ± 0,16	3,5 ± 0,12	6,3 ± 0,81	8,3 ± 0,7	10,1 ± 1,1
700	2,2 ± 0,16	4,2 ± 0,17	8,3 ± 0,62	8,9 ± 1	10,7 ± 0,9
1400	2,2 ± 0,16	5,1 ± 0,2	8,8 ± 1,07	9,7 ± 0,9	12,1 ± 1,2
2100	2,2 ± 0,16	5,9 ± 0,4	9,1 ± 1,2	13 ± 1,2	13,9 ± 1,5

сата выше 700 мкг/л. В то время как гормезисный рост водорослей наблюдается уже при 350 мкг/л.

Таким, образом, добавление глифосата стимулировало развитие бактерий в обеих культурах, причём эффект усиливался с повышением концентрации гербицида. Полученные результаты подтверждают, что часть глифосата минерализуется бактериями, однако этот процесс требует времени (Sun et al., 2019; Singh et al., 2020). Поскольку рост водорослей наблюдался сразу после внесения гербицида, а при 350 мкг/л бактериальная активность не отличалась от контроля, мы полагаем, что на начальном этапе водоросли используют глифосат напрямую. На более поздних этапах роста, вероятно, происходит комбинированное питание: водоросли потребляют как неорганический фосфор, образовавшийся в результате минерализации, так и органический фосфор глифосата.

3.2. Влияние глифосата на физиолого-биохимические показатели микроводорослей *T. viridis* и *D. salina* при разной интенсивности света

***Tetraselmis viridis*.**

Анализ физиолого-биохимических показателей *T. viridis* через 72ч культивирования без добавления глифосата показал, что повышение интенсивности света от 45 до 500 мкЭ $м^{-2}$ $с^{-1}$ оказывает умеренное фотоингибирующее действие на клетки (Таблица 2). Отмечено уменьшение содержания хлорофилла на клетку (FL4) на 13%, достоверное снижение квантовой эффективности фотосинтеза (Fv/Fm) до 0,56 отн.ед. и повышение продукции активных форм кислорода (D2CFH-DA флуоресценция) на 30%. При этом объём клеток не изменялся, тогда как их гранулярность достоверно увеличивалась. Показатель бокового светорассеяния (SS), характеризующий внутриклеточную «сложность», возрастал на 38%, что указывает на существенные изменения внутриклеточной морфологии.

Изменение физиолого-биохимических показателей клеток при воздействии глифосата коррелировало с ростовыми характеристиками водорослей. При стимулируюших рост концентрациях гербицида (350-700 мкг/л) физиологические показатели клеток улучшались по сравнению с контролем как при оптимальной, так и при высокой освещенности (Таблица 2). В частности, отмечено выраженное снижение продукции АФК (в 2-7 раз) и повышение фотосинтетической активности клеток. Значения показателя Fv/Fm = 0,6-0,7 отн.ед. указывают на высокоэффективную фотохимическую конверсию и отсутствие значительного физиологического стресса клеток при этих концентрациях глифосата (Maxwell and Johnson, 2000).

При 1400 и 2100 мкг/л ингибирующее действие глифосата на рост сопровождалось ухудшением показателей клеток. При оптимальной освещенности у водорослей отмечены признаки острого токсического воздействия: снижение фотосинтетической активности (Fv/Fm = 0,47-0,53 отн. ед., rETR = 0,12-0,16 отн. ед.), увеличение продукции АФК (в 2-3 раза выше контроля), снижение удельного содержания хлорофилла, увеличение гранулярности клеток (SS = 43-49 отн. ед.). Повышение освещенности усиливало токсическое действие гербицида на водоросли. Так, при 1400 мкг/л глифосата и высокой освещенности 500 мкЭ $м^{-2}$ $с^{-1}$ наблюдалась критическая депрессия фотосинтеза у *T. viridis*: Fv/Fm снизился до 0,41 отн. ед., rETR – до 0,11 отн. ед. При этом D2CFH-DA флуоресценция, пропорциональная продукции АФК в клетках, резко возрастала до 348 ± 13 отн. ед. При концентрации глифосата 2100 мкг/л и высокой интенсивности света отмечена гибель водорослей.

***Dunaliella salina*.**

Режим освещения при культивировании обусловил выраженные различия в физиологических показателях *D. salina*, которые были связаны с процессами фотоадаптации клеток. В частности, через

Таблица 2. – Влияние глифосата на физиологические и биохимические параметры *Tetraselmis viridis* и *Dunaliella salina* при интенсивности света 45 мкЭ $м^{-2}$ $с^{-1}$ (синие цифры) и 500 мкЭ $м^{-2}$ $с^{-1}$ (красные цифры) через 72ч культивирования. Данные представлены в виде среднего значения ± стандартная ошибка (SE).

Концентрация мкг/л	FL4 отн.ед.	FS отн.ед.	SS отн.ед.	Fv/Fm	rETR. отн.ед.	D2CFH-DA. отн.ед.
Tetraselmis viridis						
0	112 ± 3 98 ± 5	20 ± 2 21 ± 2	30 ± 2 48 ± 5	0,61 0,56	0,2 0,16	110 ± 12 158 ± 17
350	113 ± 5 93 ± 7	22 ± 3 23 ± 2	28 ± 1 71 ± 7	0,65 0,68	0,22 0,17	56 ± 7 23 ± 3
700	126 ± 4 88 ± 5	21 ± 3 23 ± 3	26 ± 0,7 32 ± 4	0,7 0,6	0,21 0,17	19 ± 1 29 ± 4
1400	110 ± 7 81 ± 4	22 ± 2 27 ± 3	43 ± 0,5 51 ± 3	0,53 0,41	0,16 0,11	210 ± 11 348 ± 13
2100	100 ± 9 -	22 ± 3 -	49 ± 0,7 -	0,47 -	0,12 -	311 ± 10 -
Dunaliella salina						
0	52 ± 5 34 ± 3	19 ± 3 21 ± 2	47 ± 5 57 ± 7	0,72 0,52	0,19 0,12	107 ± 10 138 ± 15
350	54 ± 9 30 ± 2	21 ± 3 20 ± 3	45 ± 4 52 ± 8	0,69 0,56	0,18 0,13	95 ± 8 190 ± 22
700	56 ± 6 38 ± 3	21 ± 3 21 ± 2	40 ± 3 50 ± 5	0,7 0,56	0,17 0,15	85 ± 7 240 ± 17
1400	58 ± 5 46 ± 5	19 ± 3 22 ± 3	40 ± 3 44 ± 6	0,68 0,63	0,17 0,15	23 ± 3 42 ± 5
2100	58 ± 7 48 ± 3	21 ± 2 29 ± 3	38 ± 2 80 ± 9	0,66 0,26	0,13 0,05	19 ± 2 264 ± 22

Примечание: D2CFH-DA — флуоресценция D2CFH-DA при длине волны 525 нм, отражает продукцию активных форм кислорода (АФК) в клетках; FL4 — аутофлуоресценция хлорофилла а на одну клетку при длине волны 680 нм; FS — прямое светорассеяние (объём клетки); SS — боковое светорассеяние (гранулярность); Fv/Fm — эффективность использования энергии света фотосинтетическим комплексом фотосистемы II; rETR — относительная скорость транспорта электронов; отн.ед. — относительные единицы.

72ч роста при высокой освещенности без добавления глифосата отмечено снижение содержания хлорофилла в клетках, квантовой эффективности фотосинтеза и относительной скорости электронного транспорта в 1,4-1,6 раза. Отмечена тенденция к повышению гранулярности клеток (SS) и продукции АФК, что указывает на умеренный окислительный стресс и активацию механизмов антиоксидантной защиты.

При 350 и 700 мкг/л, несмотря на гормезисный рост клеток, их физиологические параметры существенно не отличались от контроля. Отмечено только повышение продукции АФК при высокой освещенности. Лучшие физиологические показатели клеток наблюдались при 1400 мкг/л глифосата. Как при оптимальной, так и высокой освещенности клетки характеризовались высокой фотосинтетической активностью (Fv/Fm = 0,63-0,68 отн.ед., rETR = 0,15-0,17 отн.ед.), высоким удельным содержанием хлорофилла (FL4 = 46-58 отн.ед.), низким уровнем гранулярности клеток (SS = 40-44 отн.ед.) и низкой продукцией АФК (D2CFH-DA флуоресценция регистрировалась в пределах 23-42 отн.ед.). Эти данные свидетельствуют о том, что высокая концентрация глифосата создает благоприятные условия для роста *D. salina*. При 2100 мкг/л и оптимальной освещенности устойчивость *D. salina* к воздействию гербицида сохранялась: FL4 поддерживалась на уровне 58,7 ± 7,0 отн.ед., Fv/Fm – 0,66 отн.ед., rETR – 0,13 отн.ед., продукция АФК оставалась низкой (19 ± 2 отн. ед.). При высокой освещенности, наоборот, наблюдалось критическое угнетение физиологических параметров клеток. Значения Fv/Fm и rETR снизились до 0,26 и 0,05, что указывает на практически полное угнетение фотосинтеза. При этом генерация АФК многократно увеличивалась, достигая 264 ± 22 отн.ед., что свидетельствует о быстром нарастании окислительного стресса и недостаточности компенсаторных механизмов клеток.

Результаты исследования показали, что оба вида водорослей обладают высоким биоремедиационным потенциалом, поскольку способны удалять глифосат из среды и использовать его в качестве питательного субстрата для роста. Однако эффективность удаления гербицида варьирует в зависимости от абиотических условий культивирования водорослей. Полученные данные свидетельствуют о сложном взаимодействии между освещенностью и гербицидной нагрузкой. Свет выступает модулятором метаболической активности клеток: при умеренных концентрациях глифосата высокая освещенность усиливает стимуляцию роста *T. viridis*, тогда как при высоких концентрациях световой стресс

потенцирует токсическое действие гербицида, снижая порог летальности для обоих видов, но в большей степени для *T. viridis*. *D. salina* демонстрирует способность удалять из среды высокие концентрации гербицида (1400–2100 мкг/л), которые оказывают острое токсическое действие на *T. viridis*. Эти различия важно учитывать при разработке технологий доочистки вод от гербицидов. Результаты указывают на целесообразность применения *T. viridis* для быстрого удаления низких и умеренных доз глифосата (до 700 мкг/л), тогда как для очистки от высоких концентраций более эффективна *D. salina*. Кроме того, представленные данные подчеркивают необходимость учета абиотических факторов при экологическом прогнозировании последствий загрязнения водоемов глифосатом.

4. Заключение

Глифосат стимулирует рост *T. viridis* и *D. salina*, что выражается в высокой фотосинтетической активности клеток, низком уровне окислительного стресса и увеличении биомассы. Наблюдаемый эффект гормезиса связан со способностью водорослей использовать глифосат в качестве источника минерального питания, что делает их потенциальными объектами биоремидиации вод от гербицида. Интенсивность света выступает ключевым модулятором чувствительности водорослей к поллютанту: повышенная освещённость ускоряет метаболические процессы в клетках, потенцируя как стимулирующий, так и токсический эффект глифосата. Показана целесообразность применения *T. viridis* для быстрого удаления низких и умеренных доз глифосата (до 700 мкг/л). *D. salina*, в свою очередь, характеризуется более широкой амплитудой адаптации к сочетанному действию гербицидной нагрузки и светового стресса, что позволяет использовать этот вид для очистки вод от высоких концентраций глифосата.

Благодарности

Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда № 26-26-20041 «Использование потенциала аутентичных штаммов микроводорослей Севастопольского региона для биоремедиации водных экосистем от гербицидов и антибиотиков» при поддержке правительства Севастополя.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм

Настоящее исследование не требует одобрения этического комитета, поскольку изучаемым организмом является микроводоросль.

Список литературы

Amit, Chandra R., Ghosh U.K., Nayak J.K. et al. 2017. Phycoremediation potential of marine microalga *Tetraselmis indica* on secondary treated domestic sewage for nutrient removal and biodiesel production. Environmental Science and Pollution Research 24(26): 20868–20875. DOI: 10.1007/s11356-017-9734-6

Battaglin W.A., Meyer M.T., Kuivila K.M. et al. 2014. Glyphosate and its degradation product AMPA occur frequently and widely in US soils, surface water, groundwater, and precipitation. JAWRA Journal of the American Water Resources Association 50: 275–290. DOI: 10.1111/jawr.12159

Borovkov A.B., Gudvilovich I.N., Avsiyan A.L. et al. 2020. Scale-up of *Dunaliella salina* cultivation: from strain selection to open ponds. Journal of Applied Phycology 32(3): 1545–1558. DOI: 10.1007/s10811-020-02104-5

Cáceres T.P., Megharaj M., Naidu R. et al. 2008. Biodegradation of the pesticide fenamiphos by ten different species of green algae and cyanobacteria. Current Microbiology 57(6): 643–646. DOI: 10.1007/s00284-008-9293-7

Chorus I., Welker M. 2021. Toxic cyanobacteria in water: A guide to their public health consequences, monitoring and management (2nd ed.). CRC Press. DOI: 10.1201/9781003081449

Dabney B.L., Patiño R. et al. 2018. Low-dose stimulation of growth of the harmful alga, *Prymnesium parvum*, by glyphosate and glyphosate-based herbicides. Harmful Algae 80: 130–139. DOI: 10.1016/j.hal.2018.11.004

Dyhrman S.T., Ruttenberg K.C. et al. 2006. Presence and regulation of alkaline phosphatase activity in eukaryotic phytoplankton from the coastal ocean: Implications for dissolved organic phosphorus remineralization. Limnology and Oceanography 51(3): 1381–1390. DOI: 10.4319/lo.2006.51.3.1381

Fang T.Y., Praveena S.M., deBurbure C. et al. 2016. Analytical techniques for steroid estrogens in water samples - a review. Chemosphere 165: 358–368. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2016.09.051

Gattás F., Vinocur A., Graziano M. et al. 2016. Differential impact of *Limnoperna fortunei*-herbicide interaction between Roundup Max® and glyphosate on freshwater microscopic communities. Environmental Science and Pollution Research 23: 18869–18882. DOI: 10.1007/s11356-016-7005-6

González R., García-Balboa C., Rouco M. et al. 2012. Adaptation of microalgae to lindane: a new approach for bioremediation. Aquatic Toxicology 109: 25–32.

Goswami R.K., Agrawal K., Mehariya S. et al. 2022. Current perspective on wastewater treatment using photobioreactor for *Tetraselmis* sp.: an emerging and foreseeable sustainable approach. Environmental Science and Pollution Research 29(41): 61905–61937. DOI: 10.1007/s11356-021-16860-5

Harke M.J., Gobler C.J. et al. 2013. Global transcriptional responses of the toxic cyanobacterium, *Microcystis aeruginosa*, to nitrogen stress, phosphorus stress, and growth on organic matter. PLoS One 8(7): e69834. DOI: 10.1371/journal.pone.0069834

Kang H.J., Lim M.Y., Kwon J.H. et al. 2012. Effects of adsorption onto silica sand particles on the hydrolysis of tetracycline antibiotics. Journal of Environmental Monitoring 14(7): 1853–1859. DOI: 10.1039/C2EM10961A

Kharchuk I.A., Rylkova O.A., Beregovaya N.M. et al. 2022. State of cyanobacteria *Arthrospira platensis* and of associated microflora during long-term storage in the state of anhydrobiosis. Microbiology 91(6): 704–712. DOI: 10.1134/S0026261722601786

Le V.V., Tran Q.G., Ko S.R. et al. 2023. How do freshwater microalgae and cyanobacteria respond to antibiotics? Critical Reviews in Biotechnology 43(2): 191–211. DOI: 10.1080/07388551.2022.2026870

Liu J., Qi M., Qiu X. et al. 2025. Physiological characteristics of microalgae in response to glyphosate and tetracycline regulated by exogenous melatonin. Algal Research 89: 104081. DOI: 10.1016/j.algal.2025.104081

Malakhova L.V., Voitsekhovskaia V.V., Malakhova T.V. et al. 2023. organochlorine pollutants in components of the black sea coastal areas ecosystem of crimea from 2010 to 2022. oceanology 63(Suppl 1): S165-S173. DOI: 10.1134/S0001437023070093

Marie D., Partensky F., Jacquet S. et al. 1997. Enumeration and cell cycle analysis of natural populations of marine picoplankton by flow cytometry using the nucleic acid stain SYBR Green I. Applied and Environmental Microbiology 63: 186–193. DOI: 10.1128/aem.63.1.186-193.1997

Maršálek B., Rojíčková R. et al. 1996. Stress factors enhancing production of algal exudates: a potential self-protective mechanism? Zeitschrift für Naturforschung C 51(9-10): 646–650. DOI: 10.1515/znc-1996-9-1009

Maxwell K., Johnson G.N. et al. 2000. Chlorophyll fluorescence—a practical guide. Journal of Experimental Botany 51(345): 659–668. DOI: 10.1093/jxb/51.345.659

Mercurio P., Flores F., Mueller J.F. et al. 2014. Glyphosate persistence in seawater. Marine Pollution Bulletin 85(2): 385–390. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2014.01.021

Naorbe M.C., Serrano Jr A.E. et al. 2018. Effects of heavy metals on cell density, size, specific growth rate and chlorophyll a of *Tetraselmis tetrathele* under controlled laboratory conditions. Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation 11(3): 589–597.

Oren A. et al. 2005. A hundred years of *Dunaliella* research: 1905–2005. Saline Systems 1(1): 2. DOI: 10.1186/1746-1448-1-2

Pereira H., Páramo J., Silva J. et al. 2018. Scale-up and large-scale production of Tetraselmis sp. CTP4 (Chlorophyta) for CO2 mitigation: From an agar plate to 100-m3 industrial photobioreactors. Scientific Reports 8(1): 1–11. DOI: 10.1038/s41598-018-23340-3

Pereira H., Silva J., Santos T. et al. 2019. Nutritional potential and toxicological evaluation of Tetraselmis sp. CTP4 microalgal biomass produced in industrial photobioreactors. Molecules 24(17): 3192. DOI: 10.3390/molecules24173192

Pérez-Rama M., Alonso J.A., López C.H. et al. 2002. Cadmium removal by living cells of the marine microalga *Tetraselmis suecica*. Bioresource Technology 84(3): 265–270. DOI: 10.1016/S0960-8524(02)00045-7

Pizarro H., Vera M.S., Vinocur A. et al. 2016. Glyphosate input modifies microbial community structure in clear and turbid freshwater systems. Environmental Science and Pollution Research 23: 5143–5153. DOI: 10.1007/s11356-015-5748-0

Pogosyan S.I., Gal'chuk S.V., Kazimirko Yu.V. et al. 2009. The use of the fuorimeter "MEGA-25" to determine the amount of phytoplankton and assess the state of its photosynthetic apparatus. Water: Chemistry and Ecology 6: 34–40.

Qiu H., Geng J., Ren H. et al. 2013. Physiological and biochemical responses of *Microcystis aeruginosa* to glyphosate and its Roundup® formulation. Journal of Hazardous Materials 248: 172–176. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2012.12.033

Ramanan R., Kim B.H., Cho D.H. et al. 2016. Algae–bacteria interactions: evolution, ecology and emerging applications. Biotechnology Advances 34(1): 14–29. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2015.12.003

Romano-Armada N., Rajal V.B. et al. 2022. Following the steps towards glyphosate bioremediation. How close are we to field success? In: Siddiqui S., Meghvansi M.K., Chaudhary K.K. (Eds.) Pesticides bioremediation. Springer, Cham. DOI: 10.1007/978-3-030-97000-05

Semple K.T., Cain R.B., Schmidt S. et al. 1999. Biodegradation of aromatic compounds by microalgae. FEMS Microbiology Letters 170(2): 291–300. DOI: 10.1111/j.1574-6968.1999.tb13386.x

Sethunathan N., Megharaj M., Chen Z.L. et al. 2004. Algal degradation of a known endocrine disrupting insecticide, α-endosulfan, and its metabolite, endosulfan sulfate, in liquid medium and soil. Journal of Agricultural and Food Chemistry 52(10): 3030–3035. DOI: 10.1021/jf035173x

Singh S., Kumar V., Gill J.P.K. et al. 2020. Herbicide glyphosate: toxicity and microbial degradation. International Journal of Environmental Research and Public Health 17(20): 7519. DOI: 10.3390/ijerph17207519

Solomonova E., Shoman N., Akimov A. et al. 2024. Differential responses of diatom and dinophyte microalgae to the presence of glyphosate herbicide in the medium. Regional Studies in Marine Science 73: 103514. DOI: 10.1016/j.rsma.2024.103514

Solomonova E.S., Shoman N.Yu., Akimov A.I. et al. 2024. Hormesis effect of the herbicide glyphosate on growth and lipid synthesis in the microalga Isochrysis galbana, an object of industrial cultivation. Aquaculture International 32(6): 7253–7261. DOI: 10.1007/s10499-024-01512-5

Sun M., Li H., Jaisi D.P. et al. 2019. Degradation of glyphosate and bioavailability of phosphorus derived from glyphosate in a soil-water system. Water Research 163: 114840. DOI: 10.1016/j.watres.2019.07.007

Tang L., Wang J., Zeng G. et al. 2016. Enhanced photocatalytic degradation of norfloxacin in aqueous Bi2WO6 dispersions containing nonionic surfactant under visible light irradiation. Journal of Hazardous Materials 306: 295–304. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2015.12.044

Vera M.S., Di Fiori E., Lagomarsino L. et al. 2012. Direct and indirect effects of the glyphosate formulation Glifosato Atanor® on freshwater microbial communities. Ecotoxicology 21: 1805–1816. DOI: 10.1007/s10646-012-0915-2

Vera M.S., Lagomarsino L., Sylvester M. et al. 2010. New evidences of Roundup® (glyphosate formulation) impact on the periphyton community and the water quality of freshwater ecosystems. Ecotoxicology 19: 710–721. DOI: 10.1007/s10646-009-0446-7

Wang H., Joseph J.A. 1999. Quantifying cellular oxidative stress by dichlorofluorescein assay using microplate reader. Free Radical Biology and Medicine 27(5-6): 612–616 DOI: 10.1016/S0891-5849(99)00107-0

Wang C., Lin X., Li L. et al. 2016. Differential growth responses of marine phytoplankton to herbicide glyphosate. PLoS ONE 11: e0151633. DOI: 10.1371/journal.pone.0151633

Wang C., Li J., Li S. et al. 2024. Effects and mechanisms of glyphosate as phosphorus nutrient on element stoichiometry and metabolism in the diatom Phaeodactylum tricornutum. Applied and Environmental Microbiology 90(2): e02131-23. DOI: 10.1128/aem.02131-23

Wijffels R.H., Barbosa M.J. 2010. An outlook on microalgal biofuels. Science 329(5993): 796–799. DOI: 10.1126/science.1189003

Zhang H., Hu C., Jia X. et al. 2012. Characteristics of γ-hexachlorocyclohexane biodegradation by a nitrogen-fixing cyanobacterium, Anabaena azotica. Journal of Applied Phycology 24(2): 221–225. DOI: 10.1007/s10811-011-9670-5

Zhang Y., Habteselassie M.Y., Resurreccion E.P. et al. 2014. Evaluating removal of steroid estrogens by a model alga as a possible sustainability benefit of hypothetical integrated algae cultivation and wastewater treatment systems. ACS Sustainable Chemistry & Engineering 2: 2544–2553. DOI: 10.1021/sc5004538

Zhang Q., Zhou H., Li Z. et al. 2016. Effects of glyphosate at environmentally relevant concentrations on the growth of and microcystin production by Microcystis aeruginosa. Environ. Monit. Assess. 188: 1–7. DOI: 10.1007/s10661-016-5627-2

Original Article

Study of vertical stratification of freshwater epipelic diatoms under seminatural conditions

Chudaev D.A.*, Blagoveshchenskaya E.Yu.

Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Leninskye gory, 1, 12, Moscow, 119234, Russia

ABSTRACT. This paper proposes a new modification of the method for studying epipelic diatom communities. The proposed modification is based on the use of multiple tissue layers rather than a single layer, placed on the surface of moist bottom sediment, followed by separate studies of their diatom complexes. The modification was probed with materials from Sterlyazhy Pond (Zvenigorod Biological Station MSU). The outcomes of this method highlight substantial epipelic community stratification based on the relative taxon abundance and the community size structure. Differences in sediment microhorizon preferences were also identified among morphologically similar *Sellaphora* species.

Keywords: epipelon, methods, ecology, diatoms

For citation: Chudaev D.A., Blagoveshchenskaya E.Yu. Study of vertical stratification of freshwater epipelic diatoms under seminatural conditions // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - P. 488-504. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-488

1. Introduction

The epipelon is a community of the organisms that inhabit the surface of silty fine-grained sediments (Round, 1981). In the mid-20th century, J.W.G. Lund (1942) was the first to prove the specificity of the epipelic community and its independence from planktonic and epiphytic communities. Various researchers were focused on the study of the structure and dynamics of freshwater epipelic communities, and the main results of these studies were summarized in several reviews (Round, 1981; Poulíčková et al., 2008; 2014). A. Pulíčková et al. (2008) pointed to the study of the structural features of epipelic communities, with particular attention to their stratification, as one of the promising lines of research. However, epipelic algae are microorganisms, which should be taken into account when choosing the spatial scale of the study (Lowe, 2011). Different methods were proposed for studying epipelic communities, including a “tissue” method (see review in J.W. Eaton, B. Moss (1966)). Even early diatom studies (e.g. Reinichke, 1858) revealed that diatoms can be isolated from the moist sediment by placing pieces of tissue onto its surface for a period, during which cells migrated into the tissue. However, the tissue method, as well as the frequently used coverslip-method, and methods of direct cell counting in sediment suspension, do not allow the study of the vertical distribution of algae in the sediment. To solve this problem, various authors proposed various methods, namely: slicing short sediment cores with the freezing microtome (Palmer and Round, 1965); using corers with side openings (Gruendling, 1971); inserting vertically oriented coverslips in the sediment (Baillie, 1987); studying sediment fractures with low-temperature (Paterson, 1986) or routine scanning electron microscopy (Greenwood et al., 1999). It should be noted that the upper few millimeters of sediment are of particular interest, as they contain the bulk of algal cells (Gruendling, 1971; Baillie, 1987; Greenwood et al., 1999) and exhibit steep gradients in environmental parameters (e.g., Carlton and Wetzel, 1988).

In this paper, we propose an original modification of the tissue method for studying epipelon, which allows us to study the vertical distribution of algae under seminatural conditions. We propose placing not one, but several tissue layers on the surface of a moist sediment, and then studying them individually. The thickness of a tissue layer is only fractions of a millimeter, which should theoretically allow the study of community stratification at a microscale. Although the method is indirect, the results may be extrapolated to the natural community.

The main aim of this study is to test the proposed method of tissue layers on the example of a freshwater epipelic diatom community.

*Corresponding author. E-mail address: chudaevda@my.msu.ru (D.A. Chudaev)

Received: June 29, 2026;
Accepted after revised: August 06, 2026;
Available online: August 28, 2026

© Author(s) 2026. This work is distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

2. Materials and methods

Samples of surface bottom sediments for this study were collected from the Sterlyazhy Pond at S.N. Skadovsky Zvenigorod Biological Station. Sterlyazhiy Pond, a pit on the second floodplain terrace of the Moskva River, is filled with water owing to an artificial dam in a ravine along the stream's path. Its length is ~25 m; the average width is 15 m; the depth currently does not exceed 3 m due to heavy siltation. The reservoir is fed mainly by springs from the upper aquifer, and a small stream runs out of the pond (Anisimova et al., 2004). The water is slightly alkaline with a medium electrolyte content (Zorina et al., 2024).

Sampling was carried out on June 29 and July 20, 2025. The preliminary study was conducted in June, and the main experiment–in July. The material was collected from the same site at the bank of the pond with a glass tube (Round, 1953). Suspensions of surface bottom sediment were placed into 0.5 l bottles. The material was immediately delivered to the laboratory, where it was settled for ~40 minutes, and then the supernatant was decanted. The remaining sediment was then poured into Petri dishes (one dish per bottle). Four circles of synthetic tissue, cut to the contour of the dish, were placed onto the surface of the moist sediment in each dish. The tissue used was household disposable towels made of viscose and polyester fibers. The dishes were covered with lids and incubated in the natural dim light near the window. An experiment with one dish was conducted in June (24-hour incubation period), and in July, two different incubation periods were used (24 hours with two dishes and 48 hours with another two dishes). After incubation, the upper three tissue layers from each dish were fixed separately in 25 mL tubes with 96% ethanol. The lowest tissue layer was not fixed; it was used to prevent sediment particles from contaminating the samples.

To obtain a diatom suspension, the test tubes with tissue pieces were shaken intensively for a few minutes (all the tubes were shaken simultaneously as a single set), and then 10 mL of the resulting cell suspension was placed into conical centrifuge tubes. The cells were precipitated by centrifugation (10 min; 2000 rpm); the supernatant was removed, and 3 mL of 37% hydrogen peroxide was added to each tube. The tubes were heated in boiling water for 1 hour; then, a few drops of concentrated hydrochloric acid were added, and the samples were heated for an additional 15 minutes. After this, the suspensions were cooled, and the cleaned frustules were rinsed with distilled water four times. The sediment of the frustules was diluted to a slight turbidity to have an acceptable concentration of the valves on the slides. Drops of the suspension were placed onto coverslips and dried on a heater. Thereinafter, the material was embedded in anilin-formaldehyde resin (Eliashev, 1957).

The slides were first looked through for taking micrographs of the valves. Light microscope (LM) Levenhuk Med25T was used, equipped with oil-immersion 100× apochromatic objective with 1.32 numerical aperture (Carl Zeiss, Jena) and Levenhuk M1000 PLUS digital camera. Digital images were scaled and cropped using ImageJ software, then they were sorted by genera and then by species. In the latter case, all images were compared by placing them onto the same sheet in the GIMP program. After this, species identification was carried out.

Next, the relative abundance of species was determined by counting the first 500 valves in each slide, moving in horizontal rows across the middle of the coverslip. Although this method does not allow for determining absolute species abundances, it does allow for comparing the ratios of taxa abundances, i.e., calculating relative abundances. The relative abundance of large-celled *Sellaphora* (species groups around *S. pupula*, *S. laevissima*, and *S. bacillum*) was determined separately by counting 200 valves. The latter was performed with the dry 40× lens (apochromat, n.a. 0.95, Carl Zeiss, Jena) because it was necessary to study a larger slide area.

To analyze the ratio of different diatom size groups, we used data on the characteristic valve length, obtained by measuring the valves from the middle of the size range. For some species, average values of size ranges were taken from the literature.

Data analysis was conducted with MS Excel and Statistica. Shannon (H) and Simpson (D) indexes were calculated to characterize species diversity. Taxon relative abundance in two different samples was compared with Student's t-test. Spearman's rank correlation coefficient ρ was used for sample comparisons by relative taxa abundance; a taxon with maximal abundance received the rank 1; the next taxon–2, etc. Pearson's correlation coefficient r was calculated between the relative abundances of selected species. Cluster analysis was used to compare the similarity of the samples. The distributions of diatom size groups were compared via the Kolmogorov-Smirnov test.

3. Results and discussion

Overall, 175 diatom species from 54 genera were identified in the studied samples of Sterlyazhy Pond epipelon. The genera *Sellaphora* (29 species), *Nitzschia* (18 species), and *Navicula* (16 species) showed the largest number of species. These three genera are pennate diatoms, symmetric about all three planes of symmetry, and having raphes on both valves of the frustule. *Sellaphora* and *Navicula* cells bear median slit-like raphes, whereas *Nitschia* cells have eccentric canal raphes usually diagonally placed on cell sides. Such a shape and raphes allow members of these genera to slide in different directions between sediment particles, so it is not surprising that the diversity of these taxa in the studied samples was maximal.

Most of the revealed species were found rarely or represented by single valves. Only 51 species reached the relative abundance of 1% or more in at least one sample (Fig. 1), and the abundance of only 12 species exceeded 5% (Fig. 2).

Thirteen species were found in all tissue layers in all cases (*Cocconeis placentula* (aggr.), *Navicula cryptocephala*, *Navicula cryptotenella*, *Navicula radiosa*, *Nitzschia archibaldii*, *Nitzschia gracilis*, *Nitzschia palea*

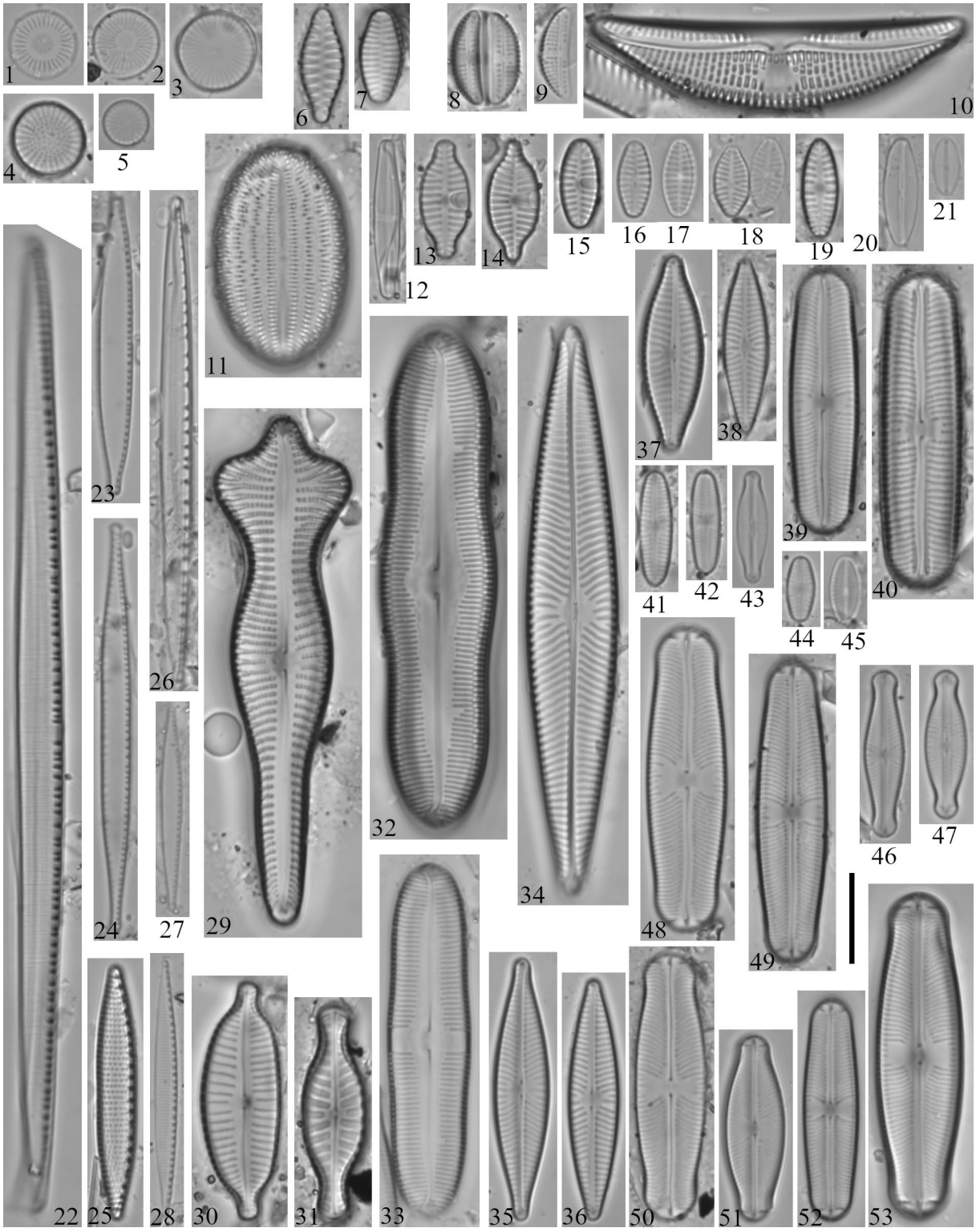


Fig.1. The most frequently recorded diatom species (reaching a relative abundance of ≥1% in at least one sample) from Sterlyazhy Pond epipelon. 1-2–*Discostella pseudostelligera* (Hustedt) Houk et Klee. 3–*Cyclostephanos invisitatus* (Hohn et Hellerman) Theriot et al. 4–*Stephanodiscus parvus* Stoermer et Håkansson. 5–*Stephanodiscus* sp. 6–*Punctastriata glubokoensis* Williams et al. 7–*Staurosira venter* (Ehrenberg) Grunow. 8–*Amphora indistincta* Levkov. 9–*Amphora pediculus* (Kützing) Grunow.10–*Amphora copulata* (Kützing) Schoeman et Archibald. 11–*Cocconeis placentula* Ehrenberg (aggr.). 12–*Achnanthidium minutissimum* (Kützing) Czarnecki. 13–*Planothidium rostratoholarcticum* Lange-Bertalot et Bąk. 14–*Planothidium* sp. 1. 15–*Planothidium victori* Novis et al. (aggr.). 16-17–*Planothidium pumilum* Bąk et Lange-Bertalot. 18–*Planothidium* sp. 2. 19–*Platessa conspicua* (A. Mayer) Lange-Bertalot. 20–*Adlafia minuscula* var. *muralis* (Grunow) Lange-Bertalot. 21–*Mayamaea* cf. *permitis* (Hustedt) Bruder et Medlin. 22–*Nitzschia tenuis* W. Smith. 23–*Nitzschia palea* (Kützing) W. Smith (aggr.). 24–*Nitzschia gracilis* Hantzsch. 25–*Nitzschia amphibia* Grunow. 26–*Nitzschia dissipata* var. *media* (Hantzsch) Grunow. 27–*Nitzschia archibaldii* Lange-Bertalot. 28–*Nitzschia subacicularis* Hustedt. 29–*Gomphonema acuminatum* Ehrenberg. 30–*Cymbopleura amphicephala* (Nägeli) Krammer. 31–*Hippodonta capitata* (Ehrenberg) Lange-Bertalot et al. 32–*Caloneis silicula* (Ehrenberg) Cleve. 33–*Caloneis ventricosa* (Ehrenberg) Meister. 34–*Navicula radiosa* Kützing. 35–*Navicula cryptocephala* Kützing. 36–*Navicula lundii* Reichardt. 37–*Navicula moskalii* Metzeltin et al. 38–*Navicula cryptotenella* Lange-Bertalot. 39-40–*Sellaphora laevissima* (Kützing) D.G. Mann, комплекс видов: 39–Ф ‘normal’, 40–Ф ‘very coarse’ (sensu Mann et al. 2008). 41–*Sellaphora saugerresii* (Desm.) C.E. Wetzel et D.G. Mann. 42–*Sellaphora atomoides* (Grunow) C.E. Wetzel et Van de Vijver (aggr.). 43–*Sellaphora* cf. *difficillima* (Hustedt) C.E. Wetzel et al. 44–*Sellaphora labernardierei* Beauger et al. 45–*Sellaphora* cf. *raederae* (Lange-Bertalot) C.E. Wetzel. 46–*Sellaphora* cf. *disjuncta* (Hustedt) D.G. Mann. 47–*Sellaphora* sp. 48-53–*Sellaphora pupula* (Kützing) Mereschkowsky, комплекс видов: 48–*Sellaphora blackfordensis* D.G. Mann et S. Droop; 49–*Sellaphora bisexualis* D.G. Mann et K.M. Evans; 50–*Sellaphora capitata* D.G. Mann et S.M. McDonald; 51–*Sellaphora auldreekie* D.G. Mann et S.M. McDonald; 52–Ф ‘pointy’; 53–Ф ‘corpulent’ (sensu Mann et al. 2008). Scale bar is 10 μm.

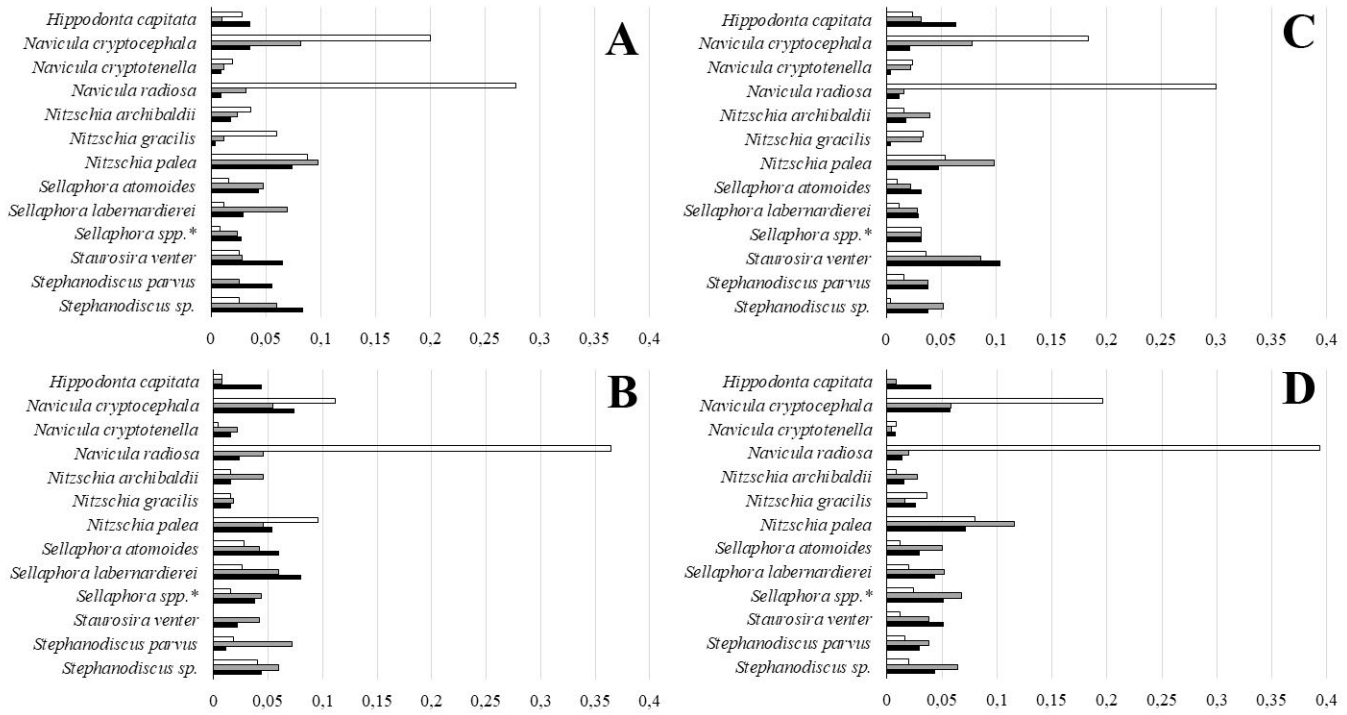


Fig.2. Relative abundance of the dominant species (≥5%) in different tissue layers. A, B–24- hour incubation; C, D–48-hour incubation. Legend: white is the upper layer, gray–middle layer, and black–lower layer. Proportions of large-celled Sellaphora cells in girdle view are marked with asterisk (*). The horizontal axis represents the proportion of the species' valve number to the total number.

(aggr.), *Planothidium victori* (aggr.), *Sellaphora atomoides* (aggr.), *Sellaphora labernardierei*, *Sellaphora laevissima* s. str., *Sellaphora blackfordensis*, and *Stephanodiscus* sp.) during the experiment conducted in July; there were no unique species for any layer.

Fewer taxa were present in a single tissue sample: the lower and middle layers contained 66–75 species, and the upper layers had 46–49 species (per 500 valves). The upper layers demonstrated not only lower species richness but also lower diversity according to the Shannon index *H* (~2.6 for upper layers vs. ~3.6 for middle and lower layers, Fig. 3). The upper layers were characterized by higher values of Simpson's *D* index, which also indicates a decrease in species diversity.

Some members of the genera *Hippodonta*, *Navicula*, *Nitzschia*, *Sellaphora* (symmetrical biraphids) together with *Staurosira* (araphids) and *Stephanodiscus* (centrics) were among the dominant species. The main dominants were *Navicula radiosa* (Fig. 1: 34), *Navicula cryptocephala* (Fig. 1: 35), and *Nitzschia palea* (Fig. 1: 23).

Proportions of *N. radiosa* and *N. cryptocephala* valves in the upper tissue layers in comparison with the middle and lower layers (Figs 2, 4) were significantly higher. It should be mentioned that these *Navicula* species have valves with acute apices, which probably helps the rapid and effective movement of their cells into the upper layers of the tissue or sediment.

Cluster analysis of the similarity of diatom communities also reveals differences between complexes of the upper tissue layers and all other layers, as clearly demonstrated by two distinct clusters in the dendrogram (Fig. 5). Noteworthy is that within these clusters, June samples are separated from July ones.

Concerning the most frequently recorded genera (with relative abundance ≥5%), similar patterns were observed in all experiment variants (Fig. 6). Obviously, the genera of symmetrical biraphid diatoms (*Navicula*, *Sellaphora*, and *Nitzschia*), whose structural features have already been discussed above, reached the highest relative abundance, as the same taxa also lead in species richness. Moreover, the proportion of *Navicula* valves was significantly higher in the upper tissue layer (significance level $\alpha \leq 0.05$), whereas the proportion of *Sellaphora* was, conversely, higher in the lower and middle layers; the proportion of *Nitzschia* valves was comparable in the different tissue layers.

Interestingly, members of some genera of centric (*Stephanodiscus*) and araphid (*Staurosira*) diatoms, which are incapable of active movement, reached comparatively high relative abundances. Possibly, these forms may be associated with the drawing of their cells into the tissue by capillary forces. The lower relative

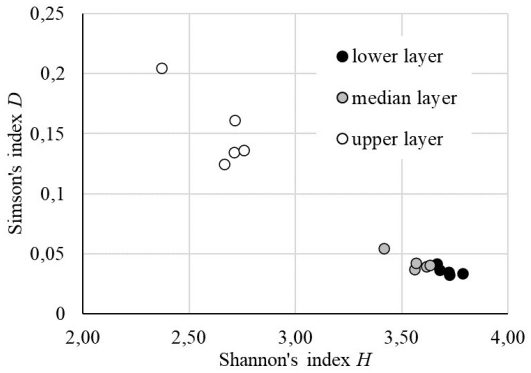


Fig.3. Comparison of diversity indices in different samples.

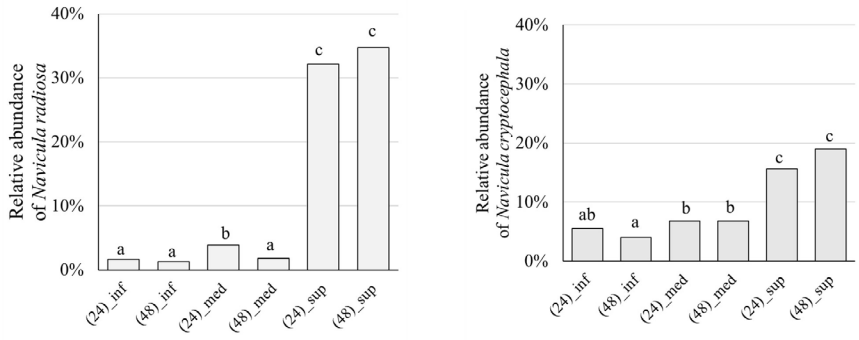


Fig.4. Relative abundance of *Navicula radiosa* (left) and *N. cryptocephala* (right) valves in July samples. 24 and 48–incubation periods (h); inf–lower layer; med–middle layer; and sup–upper layer. Different letters above the rectangles indicate the significance of the differences according to *t*-test ($\alpha \leq 0.05$).

abundance of these taxa in the upper layer supports this assumption. For example, the relative abundance of *Stephanodiscus* in the upper layer in July was 3.55%, which was significantly lower than in the middle (10.35%) and lower (8.75%) layers. Similar results were obtained in the pilot June experiment.

The community structure may be largely described as the order of dominant genera according to the diminution of their relative abundance, so we have tested the stability of this order across tissue layers. Spearman's rank correlation coefficient was based on the combined data from two replicates of the July experiment. Only genera encountered in all experimental variants, namely *Cocconeis*, *Navicula*, *Nitzschia*, *Planothidium*, *Sellaphora* small, *Sellaphora* large, and *Stephanodiscus*, were analyzed. Critical value of rank cor-

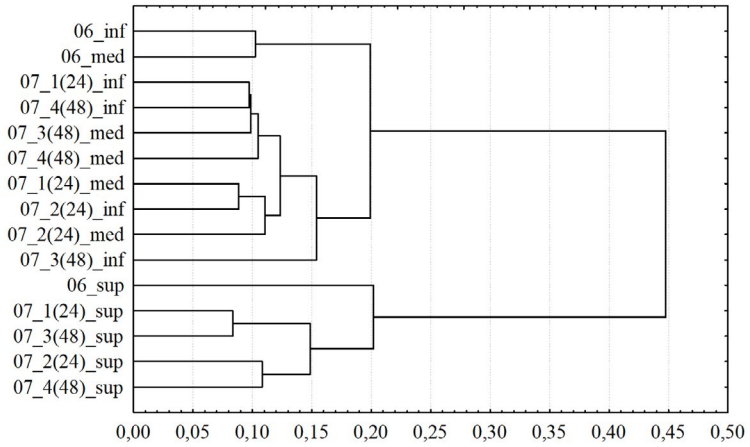


Fig.5. Similarity between diatom complexes in different experimental variants. Complete-linkage clustering (farthest neighbor clustering); Euclidean distances; 06–June; 07–July; 1, 2, 3, 4– numbers of Petri-dishes; (24)–24-hour incubation; (48)–48-hour incubation; inf–lower layer; med–middle layer; and sup– upper layer.

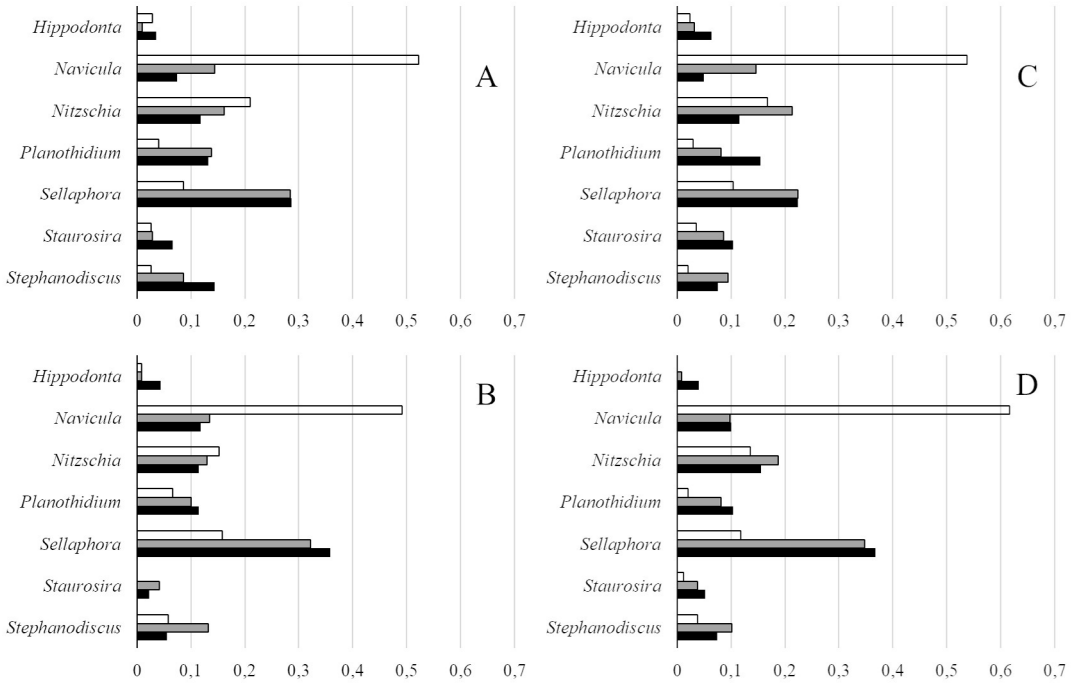


Fig.6. Relative abundance of valves of dominant genera (≥5%) in the different tissue layers. A, B–24-hour incubation; C, D–48-hour incubation. Legend: white–upper layer, gray–middle layer, and black–lower layer. The fraction of the number of valves is shown on the horizontal axis.

relation coefficient for 5% significance level and sample size 7 (number of genera included into analysis) is $\rho = 0.781$. We have received significant coefficient values for the pairwise comparisons "lower layer–middle layer" ($\rho = 0.81$) and "middle layer–upper layer" ($\rho = 0.82$), indicating similarity of these micro-horizons by this parameter. However, the comparison "lower layer–upper layer" demonstrates significant differences in the order of taxa ($\rho = 0.581$).

According to the average valve size (length or diameter), revealed species were classified into four groups: <15 μm, 15–30 μm, 30–60 μm, and >60 μm. Although this estimate of the community size structure is rather rough, there are certain reproducible patterns. In all Petri dishes, the proportion of small-sized valves was much higher for the lower and middle tissue layers compared to the upper one (Fig. 7). On the contrary, the proportion of large valves was higher in the upper layer. Seemingly, large diatom cells can more efficiently navigate within sediment or tissue due to their larger size. Similar results were obtained in the preliminary experiment in June.

A comparison of the size distributions of diatoms in different tissue layers and during different incubation times using the Kolmogorov-Smirnov test has revealed that the upper layers differ significantly from the middle and lower ones. The latter two, in contrast, have no significant differences (Fig. 8). Moreover, for some variants, the incubation period influences significantly.

The species complex of large-celled *Sellaphora* was chosen to study the possible preference for one or another tissue layers in closely related taxa. This species group at the beginning of the current century became a model system for complex investigation of the species concept in diatoms (Mann, 1999; Mann et al., 2004; 2008). In the studied materials, 13 species represented the group around *S. pupula*, and two species represented groups around *S. bacillum* and *S. laevissima* each. However, only three species, *S. bisexualis* (Fig. 1: 49), *S. blackfordensis* (Fig. 1: 48), and *S. laevissima* sensu stricto (Fig. 1: 39, phenodeme 'normal' sensu Mann et al., 2008), reached the relative abundance exceeding 10% of the total number of large-celled *Sellaphora* valves counted. The proportions of their relative abundances in different tissue layers in July are shown in Fig. 9.

Similar patterns were observed after 24 and 48 hours of incubation. The relative abundance of *S. laevissima* s.s. and *S. blackfordensis* increased from lower tissue layers to the upper ones (except for one Petri-dish for *S. blackfordensis*, Fig. 9A). In contrast, the proportion of *S. bisexualis* valves decreased from bottom to the top (Fig. 9). Significant negative correlation was observed between the relative abundances of *S. laevissima* s.s. and *S. bisexualis* in different layers (Fig. 10), with a correlation coefficient $r = -0.92$.

Previously, seasonal differences in the relative abundance of *S. pupula* morphotypes were demonstrated within a single water body (Špačková et al., 2009). Our results indicate a likely divergence of sympatric large-celled *Sellaphora* species according to spatial microhabitats.

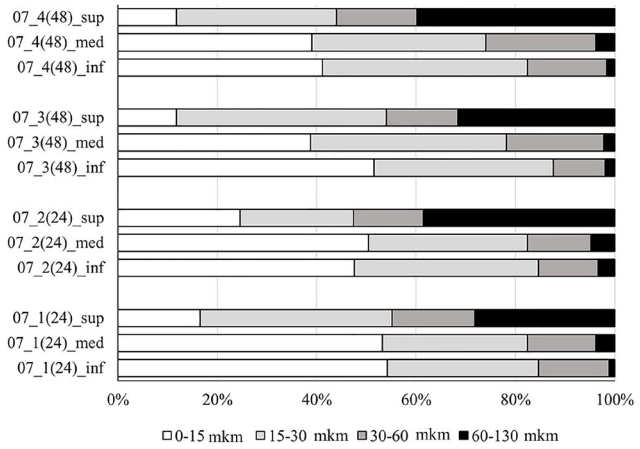


Fig.7. Proportions of the numbers of valves from different size-classes in different tissue layers: 07–July; 1, 2, 3, 4–numbers of Petri-dishes; (24)–24 hour-incubation; (48)–48-hour incubation; inf–lower layer; med–middle layer; and sup–upper layer.

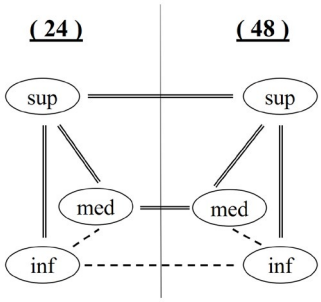


Fig.8. Comparisons of size distributions between different experimental variants by the Kolmogorov-Smirnov test (July data). (24)–24-hour incubation; (48)–48 hour-incubation; inf–lower tissue layer, med–middle tissue layer, sup–upper tissue layer; double lines indicate significant differences ($p < 0.01$); dotted lines–no significant differences ($p > 0.05$).

4. Conclusions

The proposed modification of the tissue method for studying the epipelon ("layered tissue method") allows finding differences in the diatom community structure in different micro-horizons (differences in the representation of taxa of genus and species ranks, as well as different size classes of diatoms, are revealed). The obtained data also indicate that different species of the genus *Sellaphora* have different preferences for living in a particular sediment microhorizon. A weakness of the technique is the likely drawing of small, immotile cells into the tissue by capillary forces. More accurate and reliable results require further experiments, encountering not only relative but also absolute taxa abundance, as well as the vertical diurnal migration of epipelic algae.

Acknowledgements

The study was conducted under the state assignment of Lomonosov Moscow State University.

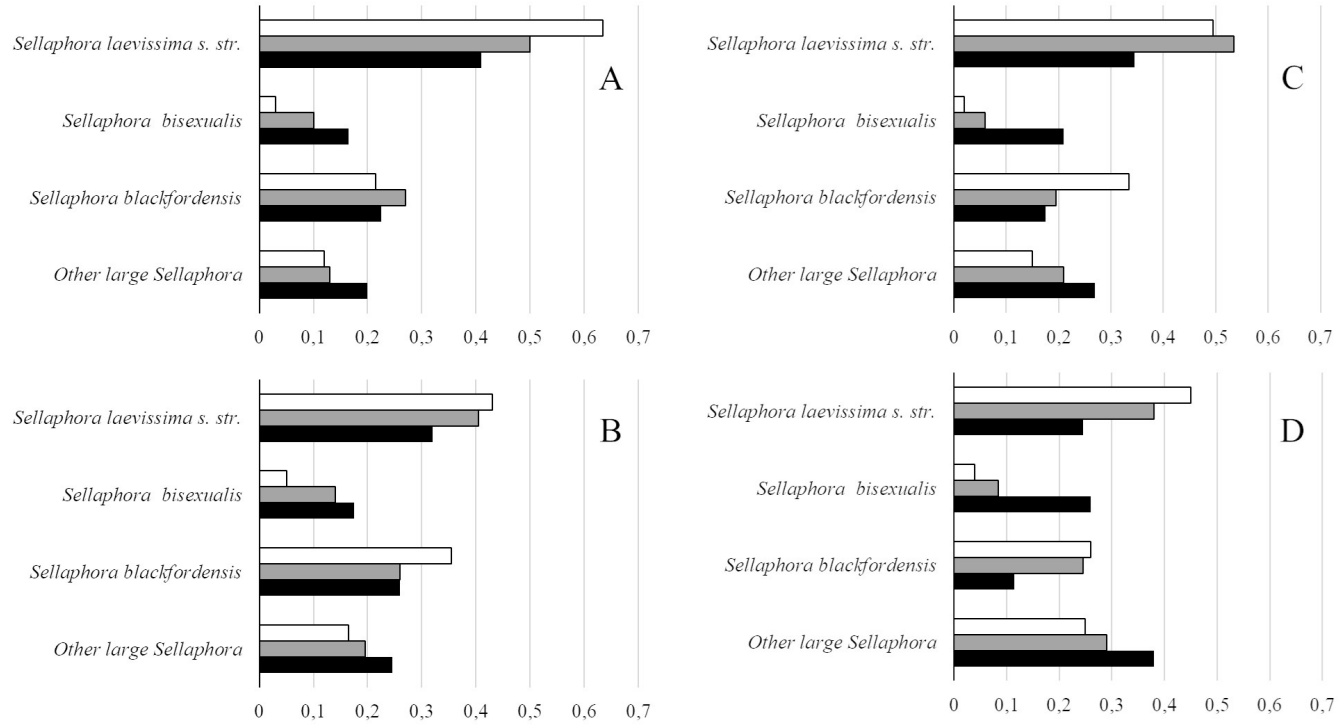


Fig.9. Relative abundance (≥10%) of large-celled *Sellaphora* species in different tissue layers. A, B–24-hour incubation; C, D–48-hour incubation. Legend: white–upper layer, gray–middle layer, and black–lower layer. A fraction of the total number of valves of large-celled *Sellaphora* is shown on the horizontal axis.

Conflict of interest

Authors declare no conflict of interest.

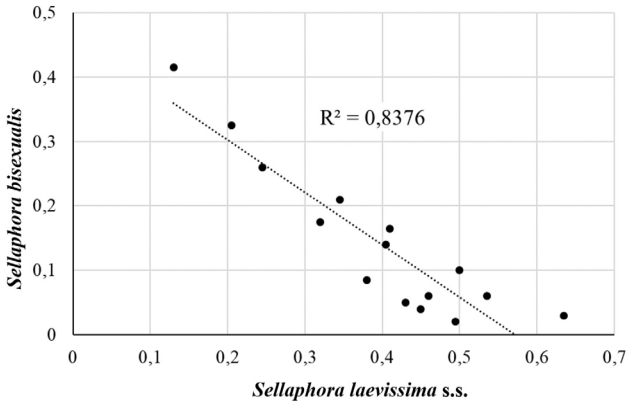


Fig.10. The abundance ratio of *Sellaphora laevissima* s.s. and *S. bisexualis* in different tissue samples.

References

Anisimova O.V., Romanova O.L., Tanchenko E.M. 2004. Atlas vodoroslei vodoemov Zvenigorodskoi biologicheskoi stantsii im. S.N. Skadovskogo. M.: Izd-vo Moskovskogo universiteta. (in Russian)

Baillie P.W. 1987. Diatom size distributions and community stratification in estuarine intertidal sediments. Estuarine, Coastal and Shelf Science 25: 193–209.

Carlton R.G., Wetzel R.G. 1988. Phosphorus flux from lake sediments: Effect of epipelic algal oxygen production. Limnology and Oceanography 33 (4, part 1): 562–570.

Eaton J.W., Moss B. 1966. The estimation of numbers and pigment content in epipelic populations. Limnology and Oceanography 11: 584–595.

Eliashev A.A. 1957. O prostom sposobe prigotovleniia vysokoprelomliaiushchei sredy dlia diatomovogo analiza. Trudy NII geologii Arktiki [Proceedings of the Research Institute of Arctic Geology] 4: 74–75. (in Russian)

Greenwood J.L., Clason T.A., Lowe R.L. et al. 1999. Examination of endopelic and epilithic algal community structure employing scanning electron microscopy. Freshwater Biology 41: 821–828.

Gruendling G.K. 1971. Ecology of the epipelic algal communities in Marion Lake, British Columbia. Journal of Phycology 7: 239–249.

Lowe R.L. 2011. The importance of scale in understanding the natural history of diatom communities. In: Seckbach J., Kociolek J.P. (Eds) The Diatom World. Springer, pp. 293–312.

Lund J.W.G. 1942. The marginal algae of certain ponds with special reference to the bottom deposits. Journal of Ecology 30: 245–283.

Mann D.G. 1999. The species concept in diatoms. Phycologia 38(6): 437–495.

Mann D.G., McDonald S.M., Bayer M.M. et al. 2004. The *Sellaphora pupula* species complex (Bacillariophyceae): morphometric analysis, ultrastructure and mating data provide evidence for five new species. Phycologia 43(4): 459–482.

Mann D.G., Thomas S.J., Evans K.M. 2008. Revision of the diatom genus *Sellaphora*: a first account of the larger species in the British Isles. Fottea, Olomouc 8(1): 15–78.

Palmer J.D., Round F.E. 1965. Persistent, vertical migration rhythms in benthic microflora. I. The effect of light and temperature on the rhythmic behavior of *Euglena obtusa*. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 45: 567–582.

Paterson D.M. 1986. The migratory behaviour of diatom assemblages in a laboratory tidal micro-ecosystem examined by low temperature scanning electron microscopy. Diatom Research 1: 227–239.

Poulíčková A., Hašler P., Lysáková M. et al. 2008. The ecology of freshwater epipelic algae: an update. Phycologia 47(5): 437–450.

Poulíčková A., Dvořák P., Mazalová P. et al. 2014. Epipelic microphototrophs: an overlooked assemblage in lake ecosystems. Freshwater Science 33(2):513–523.

Reinichke F. 1858. Das Einsammeln und Präpariren der Bacillarien. Mikroskopie 1: 47–57.

Round F.E. 1953. An investigation of two benthic algal communities in Malham Tarn, Yorkshire. Journal of Ecology 41(1): 174–197.

Round F.E. 1981. The ecology of algae. Cambridge: Cambridge University Press.

Špačková J., Hašler P., Štěpánková J. et al. 2009. Seasonal succession of epipelic algae: a case study on mesotrophic pond in a temperate climate. Fottea 9(1): 121–133.

Zorina M.D., Kurysheva L.V., Selezneva A.P. et al. 2024. Khlorokokkovye vodorosli vodnykh obieektov ZBS i Narskikh prudov. Flora i fauna Zapadnogo Podmoskovia [Flora and fauna of the Western Moscow Region] 15: 31–51. (in Russian)

Оригинальная статья

Экспериментальное изучение вертикального распределения пресноводных диатомовых водорослей в донном осадке

Чудаев Д.А.*, Благовещенская Е.Ю.

Биологический факультет МГУ имени М.В.Ломоносова, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, 119234, Россия

АННОТАЦИЯ. В настоящей работе предложена новая модификация метода изучения сообществ эпипелитных диатомовых водорослей. Суть модификации заключается в помещении на поверхность влажного донного осадка нескольких, а не одного слоя ткани, с последующим раздельным изучением формирующихся в них диатомовых комплексов. Модификация была апробирована на материале из Стерляжьего пруда (Звенигородская биологическая станция МГУ). Полученные результаты свидетельствуют о том, что данный метод позволяет выявить стратификацию эпипелитных сообществ по относительному обилию таксонов видового и родового рангов, размерной структуре сообществ, а также позволяет изучать предпочтения к микрогоризонтам донного осадка у близких по морфологии видов, принадлежащих к роду *Sellaphora*.

Ключевые слова: эпипелон, методы исследования, экология, диатомовые водоросли

Для цитирования: Чудаев Д.А., Благовещенская Е.Ю. Экспериментальное изучение вертикального распределения пресноводных диатомовых водорослей в донном осадке // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - С. 488-504. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-488

1. Введение

Эпипелон – это сообщество организмов, развивающихся на поверхности мягких мелкодисперсных грунтов (Round, 1981). Самостоятельность сообщества эпипелона и его независимость от планктонных и эпифитных сообществ впервые была продемонстрирована Дж. Ландом в середине прошлого века (Lund, 1942).

Изучением структуры и динамики сообществ эпипелона в разное время занимались различные авторы; основные результаты этих работ были обобщены в ряде обзорных публикаций (Round, 1981; Poulíčková et al., 2008; 2014). В качестве одного из перспективных направлений исследований А. Пуличкова с соавт. (Poulíčková et al., 2008) указывают на изучение структурных особенностей эпипелитных сообществ с особым вниманием к слоистости в распределении водорослей. Однако, водоросли-эпипелиты являются микроорганизмами, что необходимо учитывать при выборе пространственного масштаба исследования (Lowe, 2011). Для изучения подобной стратификации были предложены различные методики, среди которых присутствует т.н. «тканевый метод» (Eaton and Moss, 1966). Уже ранние диатомологи (e.g. Reinichke, 1858) обнаружили, что диатомовые водоросли могут быть изолированы с поверхности влажного донного осадка при помощи помещения на нее кусочков ткани и выдерживании их в течение некоторого времени, за которое водоросли перемещаются на ткань. Но тканевый метод, как и часто используемый метод наложения на осадок покровных стекол, а также методы прямого подсчета клеток в суспензии осадка, не позволяют получить представления о вертикальном распределении водорослей в слое отложений. Для решения последней задачи разными авторами предлагались различные методики: резка небольших кернов осадка на замораживающем микротоме (Palmer and Round, 1965); использование пробоотборников с боковыми отверстиями (Gruendling, 1971); втыкание в верхние слои осадка вертикально ориентированных покровных стекол (Baillie, 1987); изучение сколов осадков при помощи низкотемпературной (Paterson, 1986) или обычной сканирующей электронной микроскопии (Greenwood et al., 1999). Важно отметить, что интерес в первую очередь представляют верхние несколько миллиметров осадка, в которых сосредоточена основная масса клеток водорослей (Gruendling, 1971; Baillie,

*Автор для переписки. Адрес e-mail: chudaevda@my.msu.ru (Д.А. Чудаев)

Поступила: 29 июня 2026;
Принята после доработки: 06 августа 2026;
Опубликована online: 28 августа 2026

© Автор(ы) 2026. Эта работа распространяется под международной лицензией Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.

1987; Greenwood et al., 1999), и в которых наблюдаются резкие градиенты параметров окружающей среды (e.g. Carlton and Wetzel, 1988).

Для изучения вертикального распределения водорослей в настоящей работе предложена модификация тканевого метода исследования эпипелона. Ее суть состоит в помещении на поверхность влажного осадка не одного, а нескольких слоев ткани, с последующим изучением их по-отдельности. Толщина одного слоя ткани составляет всего доли миллиметра, что теоретически должно позволить изучить стратификацию сообщества в микромасштабе. Хотя данный метод является косвенным, полученные результаты все же могут быть экстраполированы на естественное сообщество.

В связи с этим основной целью данной работы была апробация предложенной нами методики тканевых слоев на примере сообщества пресноводных эпипелитных диатомовых водорослей.

2. Материалы и методы

Материалом для работы послужили пробы поверхностного донного осадка из Стерляжьего пруда, расположенного на территории Звенигородской биологической станции имени С.Н. Скадовского.

Стерляжий пруд представляет собой котлован, подпруженный искусственной плотиной в овраге на второй надпойменной террасе реки Москвы, длина его около 25 м, средняя ширина 15 м, в настоящее время из-за сильного заиления глубина не превышает 3 м; питание водоема осуществляется в основном родниками верхнего водоносного горизонта, из пруда вытекает небольшой ручей (Анисимова и др., 2004). Вода характеризуется слабощелочной реакцией и средним содержанием электролитов (Зорина и др., 2024).

Сбор материала проводили 29 июня и 20 июля 2025 г. Сначала был проведен пилотный эксперимент (июнь), а затем – основной (июль). Материал отбирали с берега пруда в одной и той же точке водоема при помощи стеклянной трубки (Round, 1953). Суспензии поверхностного донного осадка помещали в бутыли объемом по 0,5 л. После этого материал сразу же доставляли в лабораторию, где ему давали отстояться около 40 минут, затем аккуратно сливали надосадочную жидкость. Полученный таким образом осадок переливали в чашки Петри (из каждой бутыли получалась одна чашка). На поверхность влажного осадка в каждой чашке помещали по 4 слоя синтетической ткани, предварительно обрезанной по контуру чашки. В качестве ткани были использованы бытовые одноразовые полотенца из вискозы и полиэфирного волокна. Чашки закрывали крышками и выставляли на естественный рассеянный свет у окна. В июньском эксперименте была поставлена одна чашка Петри (срок инкубации – 24 часа). В июле были поставлено два варианта опыта со сроками инкубации 24 часа (2 чашки) и 48 часов (2 чашки). После инкубации верхние три слоя ткани с каждой чашки снимали и фиксировали раздельно в пробирках на 25 мл с 96% этиловым спиртом. Самый нижний слой ткани не фиксировали, он был использован просто для предотвращения попадания частиц осадка в пробы.

Полученные пробирки с кусочками ткани интенсивно встряхивали несколько минут (все одновременно) и переливали часть (10 мл) полученной суспензии в конические центрифужные пробирки. Клетки осаждали центрифугированием (10 минут при 2000 оборотах в минуту), сливали надосадочную жидкость и добавляли к осадкам по 3 мл 37% перекиси водорода. Нагревали на кипящей водяной бане в течение 1 часа, затем добавляли по нескольку капель концентрированной соляной кислоты и выдерживали еще 15 минут. Затем суспензию охлаждали и отмывали очищенные от органического вещества панцири дистиллированной водой путем четырехкратного центрифугирования. Полученный осадок разводили до слабой мутности, чтобы получить приемлемую плотность створок в препаратах. Капли полученной суспензии наносили на покровные стекла и высушивали на поверхности слабо разогретой электроплитки. После этого материал заключали в анилин-формальдегидную смолу А.А. Эльяшева (1957).

Полученные препараты сначала просматривали для микрофотографирования створок. Был использован световой микроскоп Levenhuk Med25T, оснащенный масляно-иммерсионным 100× объективом-апохроматом с числовой апертурой 1.32 (Carl Zeiss, Jena) и цифровой фотокамерой Levenhuk M1000 PLUS. Микрофотографии масштабировали и кадрировали при помощи программы ImageJ, сортировали сначала по родовой принадлежности, затем по видовой. В последнем случае фотографии створок видов оного рода сопоставляли непосредственно, разместив их на одном листе в программе GIMP. После этого проводили видовую идентификацию.

Затем проводили определение относительного обилия видов, просчитывая по 500 первых встреченных створок в каждом препарате. Подсчет поводили в средней части покровного стекла, двигаясь горизонтальными рядами шириной в диаметр поля зрения микроскопа. Данный метод не позволяет определить абсолютные обилия видов, но зато позволяет сравнить соотношения численностей таксонов, то есть относительные обилия. Отдельно определяли относительное обилии крупноклеточных представителей рода *Sellaphora* (группы видов *S. pupula*, *S. laevissima*, *S. bacillum*), просчитывая по 200 створок представителей этих видов. В последнем случае препарат просматривали не со стократным объективом, а с объективом ×40 (апохромат, числовая апертура 0.95, Carl Zeiss, Jena), из-за того, что необходимо было изучить большую площадь препарата.

Для анализа соотношения различных размерных групп диатомовых использовали данные о характерной длине створок, полученные путем измерения створок из середины размерного ряда.

Лишь для отдельных единично встречающихся видов, попавших в подсчеты, но не выявленных при предварительном изучении видового состава, были взяты средние значения размерных диапазонов из литературы.

Анализ данных проводили в программах MS Excel и Statistica. Для характеристики видового разнообразия были вычислены индексы Шеннона (*H*) и Симпсона (*D*). Сравнение представленности таксона в двух разных образцах проводили с помощью *t*-критерия Стьюдента для доли. Также проводили сравнение образцов по обилию таксонов с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена ρ, при этом таксону с максимальным относительным обилием присваивался ранг 1, следующему – 2 и т.д. Для относительных обилий некоторых пар видов вычисляли коэффициент корреляции Пирсона *r*. Дендрограмма сходства образцов построена по результатам кластерного анализа. Сравнение распределений размерных групп диатомовых проводили с помощью критерия Колмогорова-Смирнова.

3. Результаты и обсуждение

В изученных пробах эпипелона Стерляжьего пруда выявлено 175 видов диатомовых водорослей из 54 родов. Наибольшим числом видов представлены роды *Sellaphora* (29 видов), *Nitzschia* (18 видов) и *Navicula* (16 видов). Данные формы – это пеннатные диатомовые с клетками, симметричными относительно трех плоскостей симметрии и швами на обеих створках панциря; *Sellaphora* и *Navicula* имеют медианные щелевидные швы, а *Nitzschia* – каналовидные, эксцентричные, обычно расположенные на противоположных краях створок панциря. Подобная форма и наличие швов позволяют представителям этих родов двигаться в различных направлениях среди частиц донного осадка, поэтому неудивительно, что видовое богатство данных таксонов в изученных образцах оказалось максимальным.

Большая часть выявленных видов встречалась в пробах редко или была представлена единичными створками. Относительного обилия в 1% и более (хотя бы в одном из образцов) достигал лишь 51 вид диатомовых, фотографии которых представлены на Рисунке 1, и только 12 видов имели относительное обилие более 5 % (Рис. 2).

В июльском эксперименте во всех слоях ткани присутствовали 13 видов (*Cocconeis placentula* (aggr.), *Navicula cryptocephala*, *Navicula cryptotenella*, *Navicula radiosa*, *Nitzschia archibaldii*, *Nitzschia gracilis*, *Nitzschia palea* (aggr.), *Planothidium victori* (aggr.), *Sellaphora atomoides* (aggr.), *Sellaphora labernardierei*, *Sellaphora laevissima* s. str., *Sellaphora blackfordensis*, *Stephanodiscus* sp.). Уникальных видов, встречающихся только на одном слое ткани, но не отмеченных в других слоях, в июльском эксперименте выявлено не было.

В любом варианте опыта на каждом отдельно взятом слое ткани выявлялось заметно меньше таксонов: 66–75 видов для нижних слоев и 46–49 для верхних (на 500 подсчитанных створок). Верхние слои демонстрировали не только меньшее видовое богатство, но и в целом заметно меньшее разнообразие, индекс Шеннона H составляет около 2.6 для верхних слоев и около 3.6 для средних и нижних (Рис. 3). Соответственно, верхние слои характеризуются более высокими значениями индекса доминирования Симпсона, что также свидетельствует о снижении видового разнообразия.

В число видов доминантов вошли некоторые представители родов *Hippodonta*, *Navicula*, *Nitzschia*, *Sellaphora* (симметричные двушовные), а также *Staurosira* (бесшовные) и *Stephanodiscus* (центрические) (Рис. 2). Основными доминантами оказались *Navicula radiosa* (Рис. 1: 34), *Navicula cryptocephala* (Рис. 1: 35) и *Nitzschia palea* (Рис. 1: 23).

Доли видов *N. radiosa* и *N. cryptocephala* в верхних слоях ткани оказались значимо выше по сравнению со средними и нижними (Рис. 2, 4). Стоит сказать, что упомянутые виды *Navicula* характеризуются заостренными концами створок, что, возможно, способствует более быстрому и эффективному продвижению в верхние слои ткани и донного осадка.

Анализ сходства структуры сообществ методом кластерного анализа тоже демонстрирует отличия комплексов видов, обнаруживаемых в верхних слоях ткани, от всех прочих, что наглядно демонстрируется двумя четкими кластерами дендрограммы (Рис. 5). Стоит отметить, что в пределах этих кластеров июньские образцы отделяются от июльских.

Если проанализировать данные по относительному обилию на уровне родов, а не видов, и рассмотреть роды с относительным обилием $\geq 5\%$, то во всех вариантах эксперимента наблюдается довольно схожая картина (Рис. 6). Видно, что наибольшей относительной численности достигали роды *Navicula*, *Sellaphora*, *Nitzschia,* особенности строения представителей которых уже были обсуждены выше, в связи с тем, что эти же таксоны лидируют и по видовому богатству, причем доля створок *Navicula* была значимо выше в верхнем слое ткани (уровень значимости $\alpha \leq 0.05$), а доля створок *Sellaphora* – наоборот, в нижнем и среднем слоях; доля *Nitzschia* была сопоставимой в разных слоях ткани.

Обращает на себя внимание присутствие среди доминирующих родов центрических (*Stephanodiscus*) и бесшовных (*Staurosira*) диатомовых, представители которых не способны к активному движению. Попадание таких форм на ткань может быть связано с затягиванием их клеток капиллярными силами, т.к. мы помещали на поверхность осадка в чашках сухую ткань. В пользу этого говорит и то, что в верхнем слое этих таксонов меньше. Так, например, для июльских образцов относительное обилие *Stephanodiscus* в верхнем слое составляет 3.55%, что значимо меньше их обилия в среднем (10.35%) и нижнем (8.75%) слоях. Сходные результаты были получены также и в июньском предварительном эксперименте.

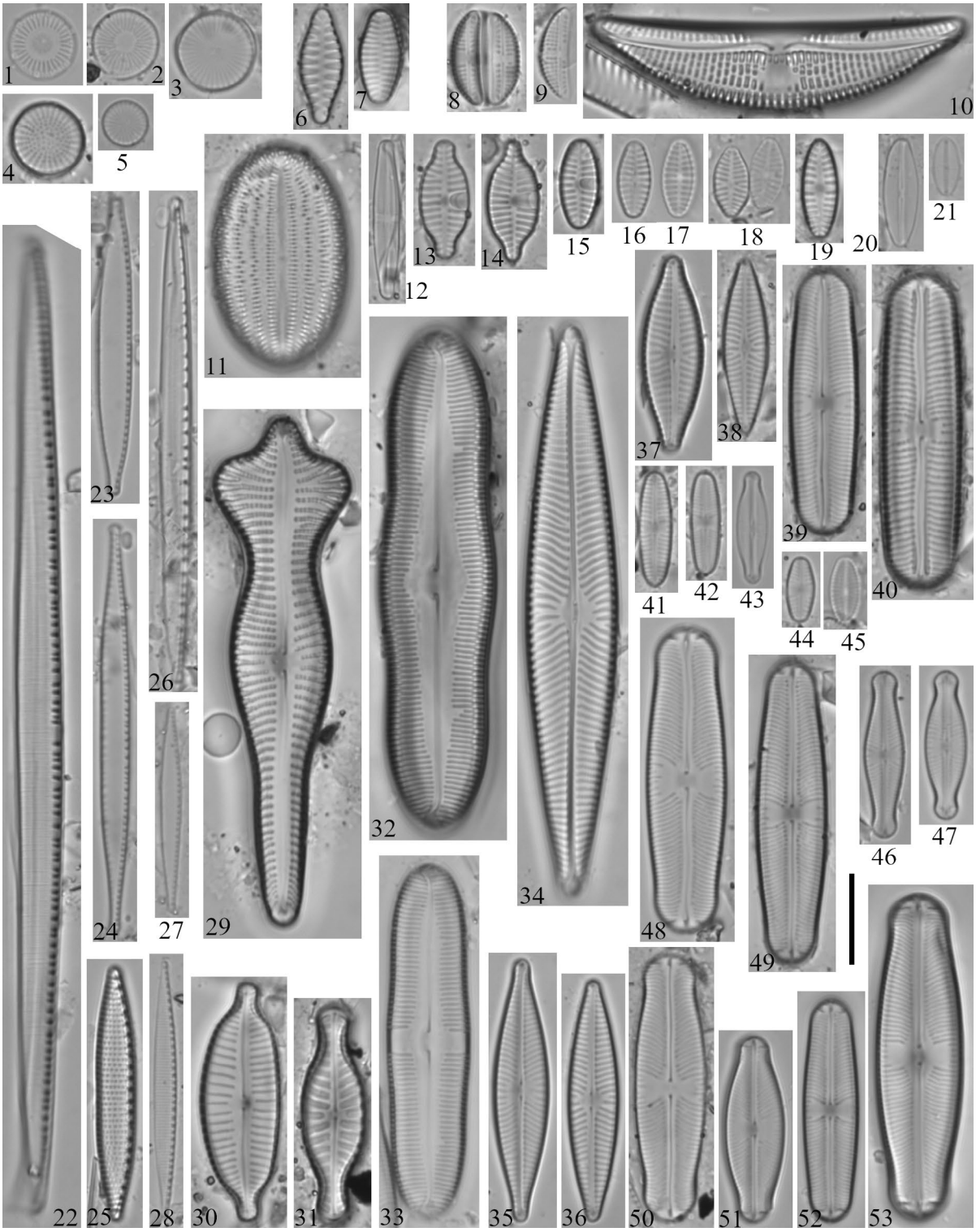


Рис.1. Наиболее часто встречающиеся виды диатомовых эпипелона Стерляжьего пруда (достигавшие относительного обилия ≥1% хотя бы в одной из проб). 1-2 – *Discostella pseudostelligera* (Hustedt) Houk et Klee. 3 – *Cyclostephanos invisitatus* (Hohn et Hellerman) Theriot et al. 4 – *Stephanodiscus parvus* Stoermer et Håkansson. 5 – *Stephanodiscus* sp. 6 – *Punctastriata glubokoensis* Williams et al. 7 – *Staurosira venter* (Ehrenberg) Grunow. 8 – *Amphora indistincta* Levkov. 9 – *Amphora pediculus* (Kützing) Grunow.10 – *Amphora copulata* (Kützing) Schoeman et Archibald. 11 – *Cocconeis placentula* Ehrenberg (aggr.). 12 – *Achnanthidium minutissimum* (Kützing) Czarnecki. 13 – *Planothidium rostratoholarcticum* Lange-Bertalot et Bąk. 14 – *Planothidium* sp. 1. 15 – *Planothidium victori* Novis et al. (aggr.). 16-17 – *Planothidium pumilum* Bąk et Lange-Bertalot. 18 – *Planothidium* sp. 2. 19 – *Platessa conspicua* (A. Mayer) Lange-Bertalot. 20 – *Adlafia minuscula* var. *muralis* (Grunow) Lange-Bertalot. 21 – *Mayamaea* cf. *permitis* (Hustedt) Bruder et Medlin. 22 – *Nitzschia tenuis* W. Smith. 23 – *Nitzschia palea* (Kützing) W. Smith (aggr.). 24 – *Nitzschia gracilis* Hantzsch. 25 – *Nitzschia amphibia* Grunow. 26 – *Nitzschia dissipata* var. *media* (Hantzsch) Grunow. 27 – *Nitzschia archibaldii* Lange-Bertalot. 28 – *Nitzschia subacicularis* Hustedt. 29 – *Gomphonema acuminatum* Ehrenberg. 30 – *Cymbopleura amphicephala* (Nägeli) Krammer. 31 – *Hippodonta capitata* (Ehrenberg) Lange-Bertalot et al. 32 – *Caloneis silicula* (Ehrenberg) Cleve. 33 – *Caloneis ventricosa* (Ehrenberg) Meister. 34 – *Navicula radiosa* Kützing. 35 – *Navicula cryptocephala* Kützing. 36 – *Navicula lundii* Reichardt. 37 – *Navicula moskalii* Metzeltin et al. 38 – *Navicula cryptotenella* Lange-Bertalot. 39-40 – *Sellaphora laevissima* (Kützing) D.G. Mann, комплекс видов: 39 – Ф ‘normal’, 40 – Ф ‘very coarse’ (sensu Mann et al. 2008). 41 – *Sellaphora saugerresii* (Desm.) C.E. Wetzel et D.G. Mann. 42 – *Sellaphora atomoides* (Grunow) C.E. Wetzel et Van de Vijver (aggr.). 43 – *Sellaphora* cf. *difficillima* (Hustedt) C.E. Wetzel et al. 44 – *Sellaphora labernardierei* Beauger et al. 45 – *Sellaphora* cf. *raederae* (Lange-Bertalot) C.E. Wetzel. 46 – *Sellaphora* cf. *disjuncta* (Hustedt) D.G. Mann. 47 – *Sellaphora* sp. 48-53 – *Sellaphora pupula* (Kützing) Mereschkowsky, комплекс видов: 48 – *Sellaphora blackfordensis* D.G. Mann et S. Droop; 49 – *Sellaphora bisexualis* D.G. Mann et K.M. Evans; 50 – *Sellaphora capitata* D.G. Mann et S.M. McDonald; 51 – *Sellaphora auldreekie* D.G. Mann et S.M. McDonald; 52 – Ф ‘pointy’; 53 – Ф ‘corpulent’ (sensu Mann et al. 2008). Масштабный отрезок – 10 мкм.

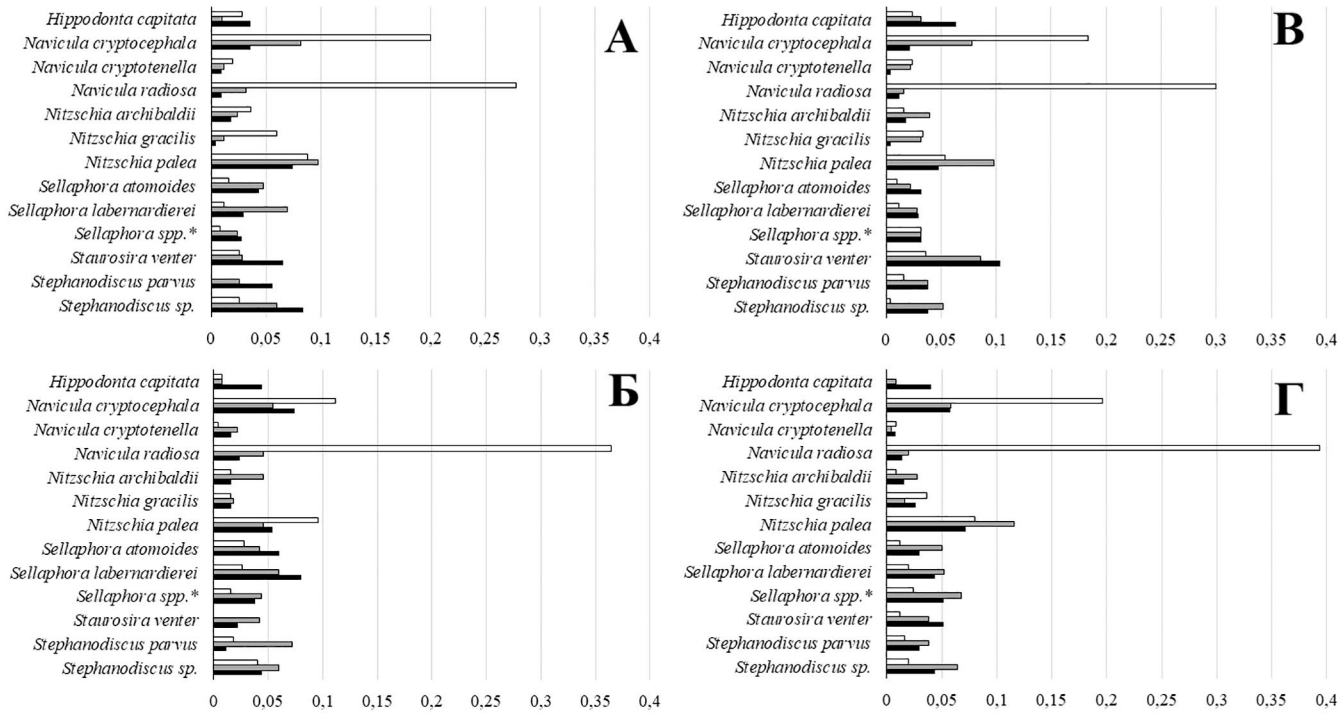


Рис.2. Относительное обилие створок видов-доминантов (≥5%) в разных слоях ткани. А, Б – инкубация 24 часа; В, Г – инкубация 48 часов. Заливка: белая – верхний слой, серая - средний слой, черная – нижний слой. Звездочкой (*) обозначены доли крупноклеточных видов Sellaphora, клетки которых были ориентированы в препаратах с пояска. По горизонтальной оси отложена доля створок от общего числа.

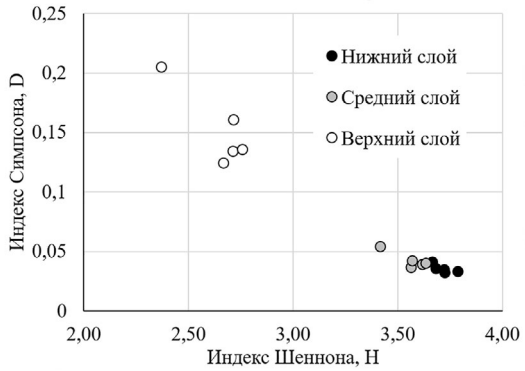


Рис.3. Сравнение индексов, характеризующих разнообразие сообществ, в разных образцах.

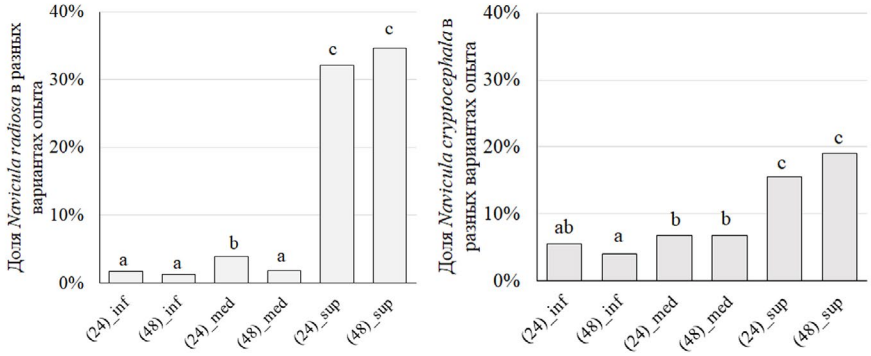


Рис.4. Относительное обилие *Navicula radiosa* (слева) и *N. cryptocephala* (справа) в июльских образцах. 24 и 48 – время инкубации, inf – нижний слой, med – середина, sup – верхний слой. Разные буквы над столбиками указывают на значимые различия по *t*-критерию ($\alpha \leq 0.05$).

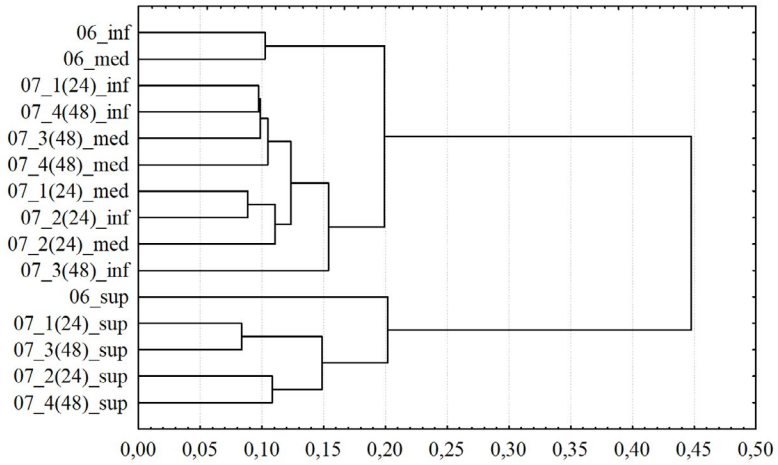


Рис.5. Сходство комплексов диатомовых в различных вариантах эксперимента. Объединение проведено методом полной связи, в качестве меры расстояния взято Евклидово расстояние; 06 – июнь, 07 – июль, 1, 2, 3, 4 – номера отдельных чашек, (24) – 24 часа экспозиции, (48) – 48 часов экспозиции, inf – нижний слой, med – средний слой, sup – верхний слой.

Структура сообщества во многом определяется порядком следования ведущих родов по убыванию их относительного обилия, соответственно можно проверить, сохраняется ли данный порядок при переходе от одного слоя ткани к другому. Для этого был вычислен коэффициент ранговой корреляции Спирмена на основе объединенных данных по двум повторностям июльского эксперимента. Использовались данные только по тем родам, которые обнаруживались во всех вариантах опыта, а именно *Cocconeis*, *Navicula*, *Nitzschia*, *Planothidium*, *Sellaphora* small, *Sellaphora* large, *Stephanodiscus*. Для уровня значимости в 5% и объема выборки 7 (число родов, использованных в анализе) критическим значением коэффициента ранговой корреляции будет $\rho = 0.781$, и в данном случае получены значимые коэффициенты и для пары «низ-середина» ($\rho = 0.81$), и для пары «середина-верх» ($\rho = 0.82$), что означает сходство сообществ данных микрогоризонтов по рассматриваемому параметру. А вот сравнение «низ-верх» уже демонстрирует значимые различия в порядке расположения таксонов ($\rho = 0.581$).

В соответствии со средним размером (длиной или диаметром) створок выявленные виды были разделены на четыре группы: до 15 мкм, от 15 до 30 мкм, от 30 до 60 мкм, свыше 60 мкм. Несмотря на то, что оценка размерной структуры сообществ проводилась довольно грубо, наблюдаются определенные воспроизводящиеся паттерны. Во всех чашках доля мелких створок была гораздо выше для нижнего и среднего слоев ткани по сравнению с верхним (Рис. 7). Доля крупных клеток, наоборот, была

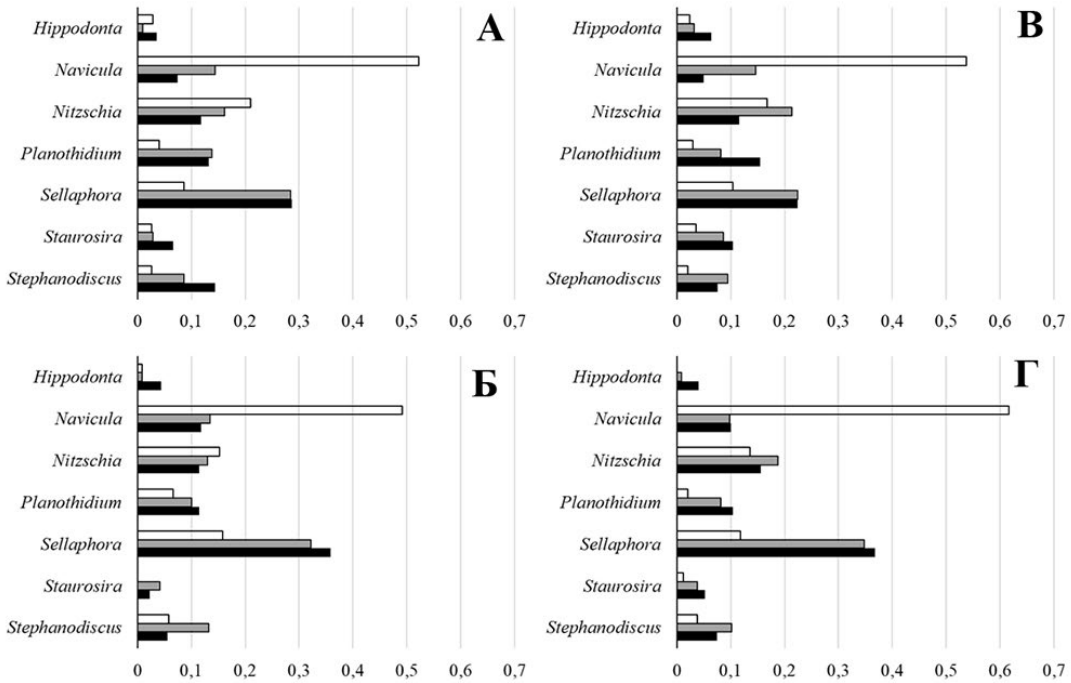


Рис.6. Относительное обилие створок родов-доминантов (≥5%) в разных слоях ткани. А, Б – инкубация 24 часа; В, Г – инкубация 48 часов. Заливка: белая – верхний слой, серая – средний слой, черная – нижний слой. По горизонтальной оси отложена доля створок от общего числа.

значительно выше в верхнем слое ткани. Видимо, крупные клетки способны легче преодолевать небольшие расстояния между частицами осадка или волокнами ткани благодаря своим размерам, в отличие от мелких. Различий между двумя временами экспозиции чашек не наблюдалось. В предварительном июньском эксперименте были получены аналогичные результаты.

Сравнение характера распределения размерной структуры диатомовых комплексов между разными слоями ткани и временами экспозиции чашек по критерию Колмогорова-Смирнова показало, что, с одной стороны, комплексы верхних слоев отличаются от таковых в нижних и средних. А между последними значимые различия, наоборот, отсутствуют (Рис. 8). Также на размерную структуру комплексов диатомовых в верхних и средних слоях оказало влияние время инкубации чашек.

Для изучения вопроса о возможных различиях в предпочтениях к тому или иному слою ткани у близких таксонов был выбран комплекс видов крупноклеточных представителей рода *Sellaphora*. Данная группа к началу текущего столетия практически стала модельной для комплексного изучения концепции вида у диатомовых (Mann, 1999; Mann et al., 2004; 2008). В исследованных материалах комплекс таксонов, ранее относимых к сборному виду *S. pupula*, оказался представлен 13 видами, а комплексы таксонов, близких к *S. bacillum* и *S. laevissima*, включали по 2 вида каждый. При этом относительного обилия больше 10% (от общего числа створок крупноклеточных видов *Sellaphora*) достигали лишь три вида: *S. bisexualis* (Рис. 1: 49), *S. blackfordensis* (Рис. 1: 48) и *S. laevissima* sensu stricto (Рис. 1: 39, фенодем ‘normal’ в понимании Mann et al., 2008). Распределение их относительных обилий по слоям ткани в июльском эксперименте показано на Рисунке 9.

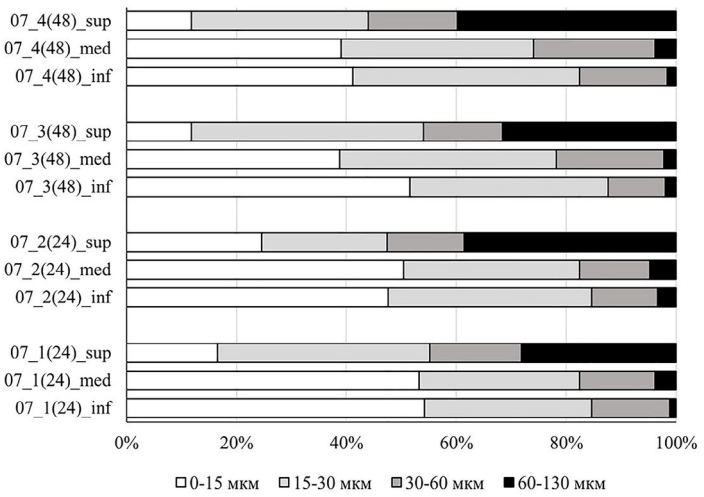


Рис.7. Соотношение числа створок, принадлежащих к различным размерным группам, в разных слоях ткани; 07 – июль, 1, 2, 3, 4 – номера отдельных чашек, (24) – 24 часа экспозиции, (48) – 48 часов экспозиции, inf – нижний слой, med – средний слой, sup – верхний слой.

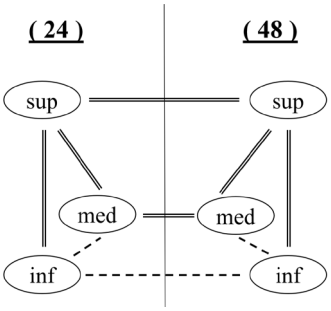


Рис.8. Сравнение распределений размерных групп в разных вариантах опыта с помощью критерия Колмогорова-Смирнова (июльские данные); (24) – 24 часа экспозиции, (48) – 48 часов экспозиции; inf – нижний слой, med – средний слой, sup – верхний слой; двойная линия – значимая разница ($p < 0.01$), пунктир – значимая разница отсутствует ($p > 0.05$).

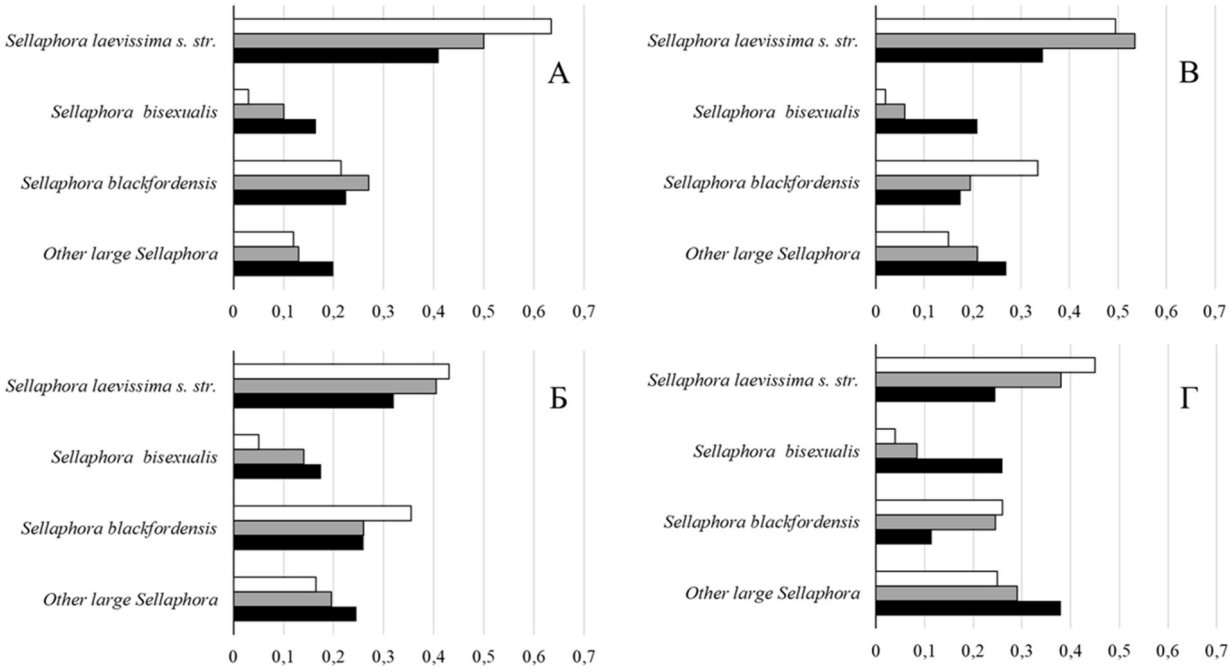


Рис.9. Относительное обилие створок крупноклеточных видов *Sellaphora* (≥10%) в разных слоях ткани. А, Б – инкубация 24 часа; В, Г – инкубация 48 часов. Заливка: белая – верхний слой, серая - средний слой, черная – нижний слой. По горизонтальной оси отложена доля от общего числа створок крупноклеточных *Sellaphora*.

Картина, наблюдавшаяся после инкубации чашек в течение 24 и 48 часов, была сходной. Относительное обилие *S. laevissima* s.s. и *S. blackfordensis* увеличивалось от нижних слоев ткани к верхним (кроме одной из чашек в случае *S. blackfordensis*, Рис. 5А). Доля створок *S. bisexualis*, наоборот, уменьшалась при переходе от нижних слоев к верхним (Рис. 9). Обнаружена значимая отрицательная корреляция между относительными обилиями *Sellaphora laevissima* s.s. и *Sellaphora bisexualis* в разных образцах (Рис. 10), коэффициент корреляции $r = -0.92$.

Ранее для относительного обилия морфотипов *S. pupula* были продемонстрированы различия в сезонном развитии в пределах одного водоема (Špačková et al., 2009); наши результаты, в свою очередь, указывают на возможное расхождение видов крупноклеточных *Sellaphora* по пространственным микронишам в толще донного осадка.

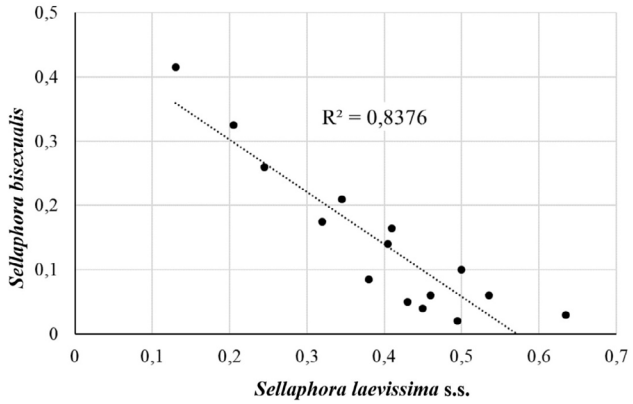


Рис.10. Соотношение относительного обилия *Sellaphora laevissima* s.s. *и Sellaphora bisexualis* в разных образцах.

4. Заключение

Предложенная модификация тканевой методики изучения эпипелона («метод тканевых слоев») позволила выявить различия в структуре сообщества диатомовых в различных микрогоризонтах на уровне соотношения долей таксонов родового и видового рангов, а также разных размерных классов диатомовых. Полученные результаты также свидетельствуют в пользу наличия предпочтений к обитанию в том или ином микрогоризонте осадка у представителей рода *Sellaphora*. В качестве недостатка методики стоит указать на возможное затягивание мелкоклеточных неподвижных форм капиллярными силами в сухую ткань. Необходимы дальнейшие эксперименты, проводимые с учетом не только относительного, но и абсолютного обилия таксонов, а также с учетом вертикальной суточной миграции водорослей-эпипелитов.

Благодарности

Исследование выполнено в рамках государственного задания МГУ имени М.В.Ломоносова.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

Анисимова О.В., Романова О.Л., Танченко Е.М. 2004. Атлас водорослей водоемов Звенигородской биологической станции им. С.Н. Скадовского. М.: Изд-во Московского университета.

Зорина М.Д., Курышева Л.В., Селезнева А.П. и др. 2024. Хлорококковые водоросли водных объектов ЗБС и Нарских прудов. Флора и фауна Западного Подмосковья 15: 31–51.

Эльяшев А.А. 1957. О простом способе приготовления высокопреломляющей среды для диатомового анализа. Труды НИИ геологии Арктики 4: 74–75.

Baillie P.W. 1987. Diatom size distributions and community stratification in estuarine intertidal sediments. Estuarine, Coastal and Shelf Science 25: 193–209.

Carlton R.G., Wetzel R.G. 1988. Phosphorus flux from lake sediments: Effect of epipelic algal oxygen production. Limnology and Oceanography 33 (4, part 1): 562–570.

Eaton J.W., Moss B. 1966. The estimation of numbers and pigment content in epipelic populations. Limnology and Oceanography 11: 584–595.

Greenwood J.L., Clason T.A., Lowe R.L. et al. 1999. Examination of endopelic and epilithic algal community structure employing scanning electron microscopy. Freshwater Biology 41: 821–828.

Gruendling G.K. 1971. Ecology of the epipelic algal communities in Marion Lake, British Columbia. Journal of Phycology 7: 239–249.

Lowe R.L. 2011. The importance of scale in understanding the natural history of diatom communities. In: Seckbach J., Kociolek J.P. (Eds). The Diatom World. Springer, pp. 293–312.

Lund J.W.G. 1942. The marginal algae of certain ponds with special reference to the bottom deposits. Journal of Ecology 30: 245–283.

Mann D.G. 1999. The species concept in diatoms. Phycologia 38(6): 437–495.

Mann D.G., McDonald S.M., Bayer M.M. et al. 2004. The *Sellaphora pupula* species complex (Bacillariophyceae): morphometric analysis, ultrastructure and mating data provide evidence for five new species. Phycologia 43(4): 459–482.

Mann D.G., Thomas S.J., Evans K.M. 2008. Revision of the diatom genus *Sellaphora*: a first account of the larger species in the British Isles. Fottea, Olomouc 8(1): 15–78.

Palmer J.D., Round F.E. 1965. Persistent, vertical migration rhythms in benthic microflora. I. The effect of light and temperature on the rhythmic behavior of *Euglena obtusa*. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 45: 567–582.

Paterson D.M. 1986. The migratory behaviour of diatom assemblages in a laboratory tidal micro-ecosystem examined by low temperature scanning electron microscopy. Diatom Research 1: 227–239.

Poulíčková A., Hašler P., Lysáková M. et al. 2008. The ecology of freshwater epipelic algae: an update. Phycologia 47(5): 437–450.

Poulíčková A., Dvořák P., Mazalová P. et al. 2014. Epipelic microphototrophs: an overlooked assemblage in lake ecosystems. Freshwater Science 33(2):513–523.

Reinichke F. 1858. Das Einsammeln und Präpariren der Bacillarien. Mikroskopie 1: 47–57.

Round F.E. 1953. An investigation of two benthic algal communities in Malham Tarn, Yorkshire. Journal of Ecology 41(1): 174–197.

Round F.E. 1981. The ecology of algae. Cambridge: Cambridge University Press.

Špačková J., Hašler P., Štěpánková J. et al. 2009. Seasonal succession of epipelic algae: a case study on mesotrophic pond in a temperate climate. Fottea 9(1): 121–133.

Original Article
LIMNOLOGY FRESHWATER BIOLOGY

Productivity parameters of *Tetraselmis viridis* (Chlorophyta) under natural illumination with increased carbon supply

Avsiyan A.L.*

Federal Research Center "A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS", 2 Nakhimov ave., Sevastopol, 299011, Russia

ABSTRACT. The development of sustainable biotechnologies for microalgal biomass production requires optimization of cultivation conditions and evaluation of productivity under natural illumination, accounting for the natural dynamics of environmental factors. The aim of this study was to assess the effect of carbon supply on production characteristics, diurnal growth dynamics, and night biomass loss during pilot-scale cultivation of the green microalga *Tetraselmis viridis* in southern Russia (mid-latitudes). The experiment was conducted in batch mode in open ponds under natural solar illumination in spring. In the control treatment, no additional carbon source other than atmospheric air was used, while in the experimental treatment, CO_2 was supplied to the culture with pH maintained up to 8.5. Biomass concentration, cell number, average daily productivity, daily production, night biomass loss, and photosynthetic efficiency were determined. In the control treatment, batch growth was limited to 8 days, with maximum average daily productivity of 6.5 g m^{-2} day^{-1} and a total yield of 43.5 g m^{-2}; growth was constrained by a pH increase to 10.5–10.8. Supplementary CO_2 supply increased productivity 1.4-fold (up to 9.5 g m^{-2} day^{-1}), daily production 1.9-fold (up to 14.6 g m^{-2}), maximum biomass to 1.12 g L^{-1}, and total yield 2.4-fold (103 g m^{-2}). Meanwhile, night biomass loss decreased from 12.5 % to 9.5 % of the evening biomass, and photosynthetic efficiency increased from 7.1 % to 12 % on average (reaching up to 17 % on certain days). Under carbon-sufficient conditions, night biomass loss was positively correlated with daily production. It was also shown that photosynthetic efficiency was negatively correlated with daily irradiance. Thus, CO_2 enrichment of *T. viridis* culture not only overcomes carbon limitation and extends the linear growth phase but also improves solar energy utilization and reduces night losses. These findings can serve as a basis for optimizing *T. viridis* cultivation technologies in open systems for biomass production intended for aquaculture, biofuel, and other biotechnological applications.

Keywords: microalgae, *Tetraselmis*, pilot-scale cultivation, productivity, carbon supply

For citation: Avsiyan A.L. Productivity parameters of *Tetraselmis viridis* (Chlorophyta) under natural illumination with increased carbon supply // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - P. 505-522. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-505

1. Introduction

In the modern bioeconomy, there is a steady trend toward expanding the application of microalgae and cyanobacteria in the food industry, agriculture and aquaculture, pharmacy and nutraceutical production, bioremediation, and biofuel development (López-Hernández et al., 2022). The microalga *Tetraselmis viridis* (Chlorodendrophyceae, Chlorophyta) is a promising candidate for algal biotechnology and is also considered a potential feedstock for biofuel production (Isdepsky and Borowitzka, 2019) due to its rapid growth and high lipid content.

The broad tolerance of *Tetraselmis* species to salinity and temperature fluctuations facilitates their use in large-scale biotechnological production (Mehariya et al., 2024). Owing to its high nutritional value, including polyunsaturated fatty acids, *Tetraselmis* is widely used as a feed organism in aquaculture (Tulli et al., 2012) and also shows potential for the enrichment of functional foods (Paterson et al., 2023).

Sustainable production of microalgal biomass and valuable components requires the development of cultivation technologies that account for speciesspecific strain characteristics (productivity, environmental requirements), cultivation systems (photobioreactor

*Corresponding author. E-mail address: anna_avs@ibss-ras.ru (A.L. Avsiyan)

Received: June 29, 2026;
Accepted after revised: July 28, 2026;
Available online: August 28, 2026

© Author(s) 2026. This work is distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

construction, cultivation mode), and the climatic features of the cultivation site, particularly, diurnal and seasonal dynamics of illumination and temperature. Most biotechnological production facilities for microalgae and cyanobacteria operate using solar energy, employing either open raceway ponds or closed photobioreactors (Novoveská et al., 2023). Although microalgae utilize solar energy efficiently under natural illumination, which significantly decreases operational costs compared to artificial lighting, biomass loss occurs during the night due to dark respiration (Edmundson and Huesemann, 2015). Furthermore, under pilot-scale conditions, culture productivity is influenced by variable environmental factors (light intensity, temperature), scaling-up effects, and the supply of carbon nutrition necessary for photosynthesis. However, laboratory conditions do not allow accurate prediction of strain productivity in the dynamically changing environment of open ponds. Therefore, trials under natural illumination and the development of cultivation regimes that account for real-time diurnal fluctuations in light and temperature are essential (Holdmann et al., 2019; Sarker and Kaparaju, 2023). Southern Russia, and particularly the Crimean region, offers several advantages for biotechnological microalgae production under natural light: sufficient daylength and solar energy input, a mild climate that enables biomass harvesting even during autumn and spring months, and proximity to seawater sources for the cultivation of marine microalgal species.

Even when light intensity and mineral nutrient availability are sufficient, a lack of a carbon source can limit production characteristics. Increased carbon availability in the culture medium can be achieved by supplying gaseous CO_2 or bicarbonates in photoautotrophic cultures, or by adding organic carbon sources (e.g., glucose, glycerol) in mixotrophic cultures of microalgae and cyanobacteria (Agbebi et al., 2022; Zhu et al., 2023). The use of CO_2 as an inorganic carbon source in microalgae and cyanobacteria cultivation not only eliminates growth limitation caused by carbon depletion but also enables carbon dioxide sequestration (Agbebi et al., 2022). The efficiency of CO_2 sequestration and the productivity of microalgal cultures depend on a complex of factors, including the method of carbon delivery to the cultivation system (Zheng et al., 2018), as well as the photobioreactor design, light intensity, temperature, and the physiological characteristics of the microalgal strain used (Zhu et al., 2023; Sarmah and Panda, 2026).

Studies on the growth of *T. viridis* in open ponds under natural illumination are rather scarce. For instance, the study (Zhondareva and Trenkenshu, 2019) investigated growth during the summer period but did not assess the diurnal dynamics of production characteristics. Meanwhile, the diurnal dynamics of *T. viridis* culture density was examined (Gorbunova and Avsiyan, 2022); however, the study period was limited to only three days.

Thus, the aim of this study was to evaluate the effect of carbon supply on the production characteristics of *T. viridis* under pilotscale cultivation with natural illumination in the Sevastopol region, including the diurnal dynamics of growth parameters in relation to the natural daily cycles of solar irradiance.

2. Materials and methods

2.1. Microalgae strain and nutrient medium

The unialgal culture of green unicellular microalgae *Tetraselmis viridis* (Roukhijajnen) R.E.Norris, Hori & Chihara 1980 was used as the research object. The studied strain was IBSS-25 from the Collection of Hydrobionts of the World Ocean from the Scientific and Educational Center for Collective Use of A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS (IBSS). The IBSS-25 strain was isolated from Black Sea in 1987. The nutrient medium for marine microalgae according to Trenkenshu et al. (1981) was used for cultivation, with the following ingredients, g L^{-1}: $NaNO_3$ – 1.8; $NaH_2PO_4 \times 2H_20$ – 0.3; EDTA-Na_2 – 0.037; $FeC_6H_5O_7 \times 3H_20$ – 0.042; $MnCl_2 \times 4H_20$ – 0.008; $Co(NO_3)_2 \times 6H_20$ – 0.00625; $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \times 4H_20$ – 0.00183; $K_2Cr_2(SO_4)_2 \times 4H_20$ – 0.00238). The nutrient medium was prepared using artificial seawater (Harrison et al., 1980). The inoculum used was a *T. viridis* culture that had been preadapted to cultivation conditions under natural illumination for five days. The initial biomass density of the culture was 0.09 g L^{-1}, and the initial cell density was 4.31×10^6 cells mL^{-1}.

2.2. Cultivation conditions

Microalgae cultivation was performed in open ponds located in a greenhouse algobiotechnological unit of IBSS, Sevastopol (N. 44°61.564′, E. 33°50.463′) in spring (the last decade of March). The rectangular ponds (1×1 m) covered with polyethylene film were used as photobioreactors. The pond surface was 1 m^2, the culture depth was 10 cm, the culture volume was 100 L. The growing was performed in batch mode for 12 days. The culture layer depth and volume were kept constant by daily addition of tap water prior to sampling in order to compensate water evaporation. The quality of tap water complied with SanPiN 1.2.3685-21. No additional water sterilization was performed.

The microalgal suspension was constantly mixed using aquarium electric pumps Atman AT-202 (Chuangxing Electrical Appliances Co., Ltd, China) with 1200 L h^{-1} mixing rate. The light intensity level was determined by the natural solar irradiance, taking into account a 50% attenuation of visible light due to transmission through the polycarbonate greenhouse. The photoperiod ranged from 12 to 12.5 hours. The temperature of microalgal suspension was maintained at no less than 23 °C using an Atman AT-50W aquarium heater (Atman, China). In the control treatment, no additional carbon source was supplied; atmospheric air served as the CO_2 source for growth. In the experimental treatment, CO_2 was used as the inorganic carbon source, and its supply was regulated by a pH controller (Aqua Medic pH 2001, Aqua Medic, Germany), with the pH maintained within the range of 6.8 to 8.5.

When the pH in the pond rose above 8.5, a signal from the sensor was transmitted to the pH controller, which triggered the supply of gaseous CO_2 into the culture through a PVC tube terminating in a needle with an internal diameter of 0.5 mm. Each treatment was performed in duplicate.

2.3. Analytical methods and calculations

Sampling for culture density, temperature, and pH was performed five times during the daylight period, from 9:30 to 18:00 with 2–2.5 h intervals. The suspension temperature was measured using a mercury thermometer with an absolute measurement error of ± 0.5 °C, and the culture pH was measured with an I-150 pH meter (Izmeritelnaya tehnika Ltd., Russia). The total daily irradiance in the photosynthetically active radiation (PAR) range was determined based on data from the NASA POWER Project (https://power.larc.nasa.gov/data-access-viewer/), taking into account the attenuation of irradiance by the polycarbonate greenhouse. A 4-mm thick cellular greenhouse polycarbonate with a UV filter was used. A preliminary study showed that the photosynthetically active radiation (PAR) irradiance in the greenhouse was reduced by 50%. The dynamics of culture temperature, surface irradiance, and pH of the cell suspension during the experiment are shown in Fig. 1.

Culture density was determined photometrically. The optical density of the culture was measured in glass cuvettes with a light path length of 5 mm at a wavelength of 750 nm using a Unico-2100 photometer (UNICO (Shanghai) Instrument Co. Ltd, China). To convert optical density units (D_{750}, o.d.u.) to biomass dry weight units (B, g L^{-1}), a pre-determined conversion factor $k = 0.8$ g L^{-1} o.d.u.$^{-1}$ (Borovkov and Gevorgiz, 2005) was used:

$$B = k \cdot D_{750}.$$

Cell density (N, cell mL^{-1}) counts were performed with hemocytometer (Gorjayev's chamber, MiniMed, Russia) using light microscope Carl Zeiss Axiostar Plus (Carl Zeiss company, Germany) once a day. Concurrently, light microscopy was used to assess culture purity and to confirm the absence of contamination by over microalgae or protozoa.

The maximum average diurnal productivity (P_m) was calculated by approximating biomass growth curve at the linear growth phase:

$$B = B_l + P_m \times (t - t_l),$$

where B_l is culture density at the beginning of linear growth phase; t_l is the time at the beginning of linear growth phase (Lelekov and Trenkenshu, 2007).

Specific growth rate in terms of biomass (μ_B) was calculated as follows:

$$\mu_B = \ln(B_2) - \ln(B_1) / t,$$

where B_2 is final biomass, B_1 is initial biomass, t is time.

Specific growth rate in terms of cell density (μ_N) was calculated as:

$$\mu_N = \ln(N_2) - \ln(N_1) / t,$$

where N_2 is final cell density, N_1 is initial cell density, t is time.

Total night biomass loss (NBL) as fraction of biomass at the end of light period (NBL_B) was calculated using the equation:

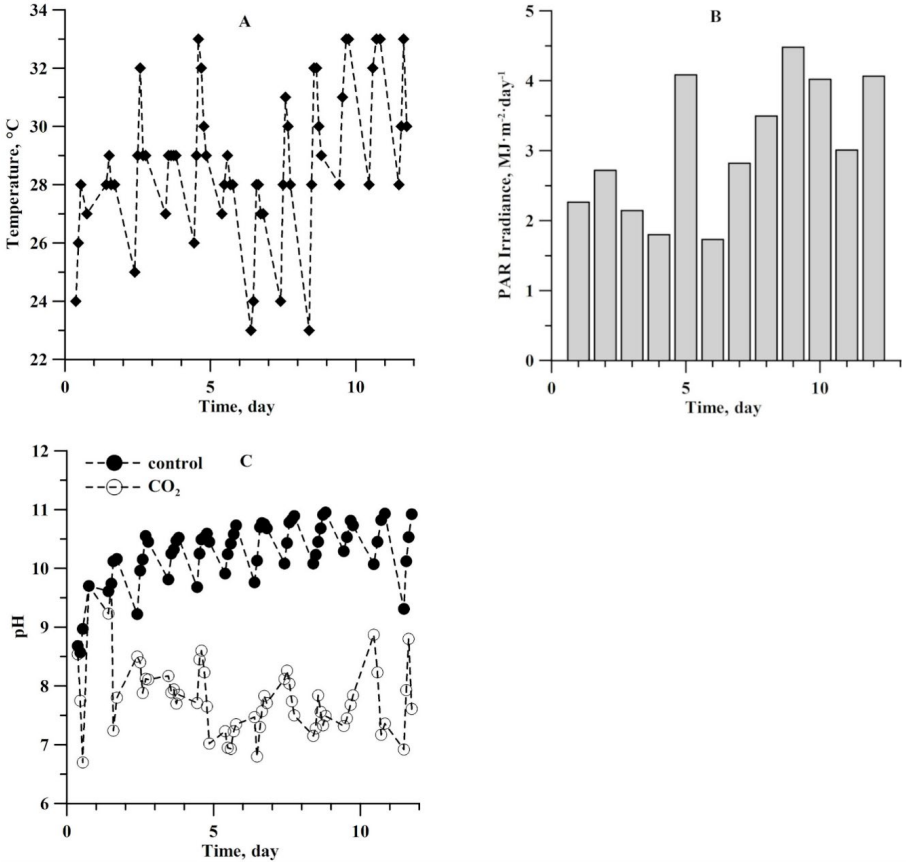


Fig.1. Cultivation conditions: temperature of the cell suspension (A), solar irradiance of the culture surface in the PAR range (B), and pH of the cell suspension (C) during pilot-scale growth of *T. viridis* culture. CO_2 is a treatment with additional carbon dioxide supply.

$$NBL_B = ((B_L' - B_D)/B_L) \cdot 100\%;$$

NBL as fraction of production in the previous light period (NBL_P) was calculated using the equation:

$$NBL_P = ((B_L' - B_D)/(B_L' - B_D')) \cdot 100\%$$

where B_L' is culture density at the end of the previous light period, B_D is culture density at the end of dark period, B_D' is culture density at the end of the previous dark period (Qiang et al., 1996).

Daytime production was determined as the difference between culture density at the end and at the beginning of the daylight period. The calculation of culture production parameters (density, productivity) per unit area was performed taking into account a relation of 100 L m^{-2} at a culture layer depth of 10 cm.

Photosynthetic efficiency (PE) was calculated from the daytime areal productivity ($g \cdot m^{-2} \cdot day^{-1}$) multiplied by the mean caloric content and divided by the solar PAR energy input per unit ground area ($kJ \cdot m^{-2} \cdot day^{-1}$), considering that all light energy was absorbed by the dense algal culture. The value of caloric content of the *Tetraselmis* biomass was taken as 24.2 kJ g^{-1} (Chini Zittelli et al., 2006).

2.4. Statistical analyzes

Statistical analysis of experimental data was performed using Grapher3 (Golden software) and Microsoft Excel (Microsoft office) software. Arithmetic mean ($\bar{x}$), standard deviation (SD), error of the mean, confidence intervals (CI) for the mean ($\Delta\bar{x}$) were estimated. The significance of differences between samples was assessed using a Student's t-test at $p < 0.05$. Correlation analysis was carried out, Spearman correlation coefficients (r) were calculated. All calculations were made for the significance value $\alpha = 0.05$.

3. Results

The growth parameters of *T. viridis* culture under natural illumination were assessed in open-type ponds similar in design to industrial systems. The open ponds were placed in a greenhouse to partially control the temperature regime and to protect against precipitation and contamination. The microscopic control of microalgal culture purity proved the absence of contamination by other microalgae species or protozoa in the course of all cultivation period. The microalga cultivation was carried out in spring, under a photoperiod close to 12 h (spring equinox). The total daily photosynthetically active radiation (PAR) irradiance during this season ranged from 2 to 4 MJ m^{-2} day^{-1} (Fig. 1 B).

The experiment was conducted in batch mode and lasted 12 days. The experiment was terminated upon the onset of the decline phase in the control treatment. The batch growth curves of volumetric biomass concentration (dry weight) are shown in Fig. 2A. Since for pilot-scale systems the biomass concentration and productivity per unit surface area are important parameters, the areal biomass concentration was additionally calculated (Fig. 2B).

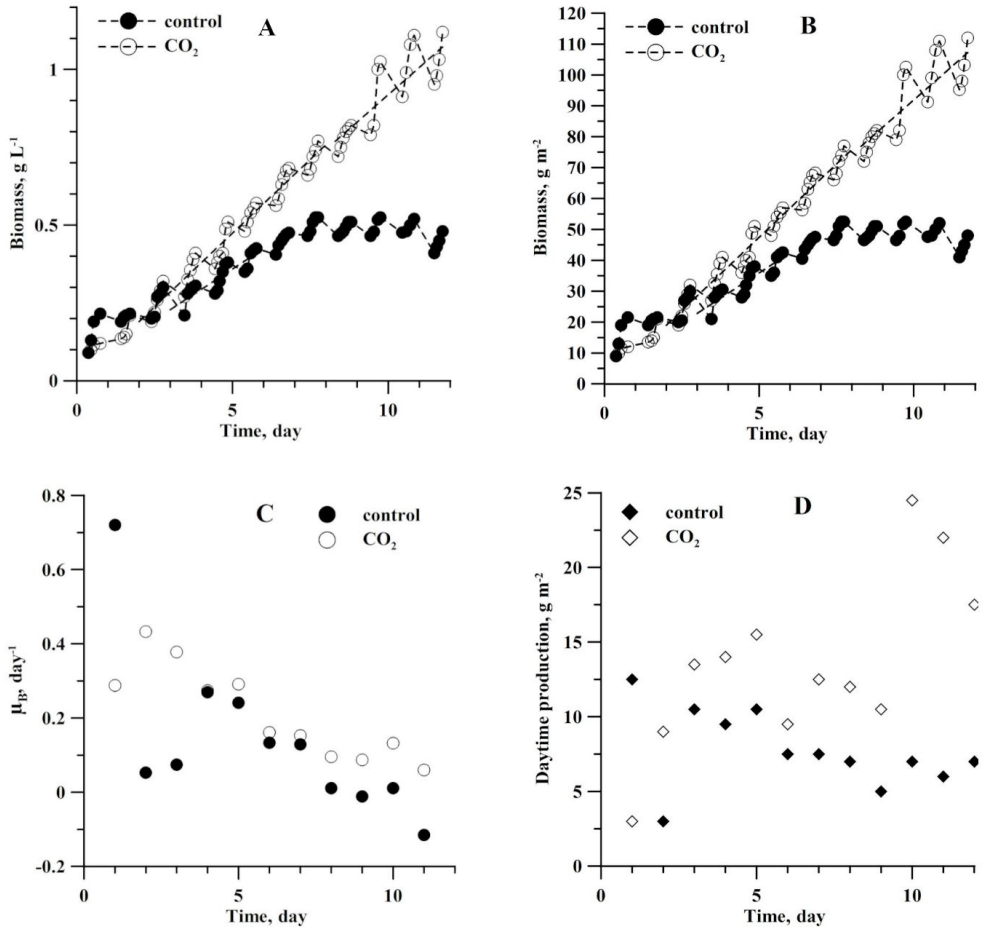


Fig.2. Biomass concentration dynamics per volume (A) and per surface area (B), specific growth rate (C) and daytime production (D) during batch cultivation of *T. viridis* culture under natural illumination with different carbon supply. CO_2 is a treatment with additional carbon dioxide supply.

In the control treatment without additional CO_2 supply, the linear growth phase of *T. viridis* culture in terms of biomass was observed from day 4 to day 6. The maximum average daily biomass productivity (P_m) was 0.065 g L^{-1} day^{-1} (6.5 g m^{-2} day^{-1}). After day 8, the culture entered the stationary phase, and by day 12 the decline phase began. The maximum specific growth rate in terms of biomass (μ_B) was recorded on day 1 of cultivation (0.72 day^{-1}), decreasing to 0.01 day^{-1} by day 8, and subsequently became close to zero or negative (Fig. 2C). The maximum biomass reached 0.525 g L^{-1} (or 52.5 g m^{-2} on a surface-area basis), corresponding to a total yield of 43.5 g m^{-2} over the entire cultivation period. It should be noted, that there was no biomass accumulation after day 8. It should be noted that in the absence of CO_2 supply, the pH level during batch cultivation increased. After 3 days, the pH at the end of the daylight period reached values of 10.5–10.8, while decreasing to 9.7–10 during the night (Fig. 1C), due to dark respiration and CO_2 release into the medium by the microalgal cells.

In the treatment with additional CO_2 supply, a lag phase was observed on the first day of the experiment, during which the culture adapted to the increased carbon concentration. Thereafter, growth remained linear until the end of the experiment, with two distinct linear growth phases: from day 3 to day 8, with an average daily productivity of 0.095 g L^{-1} day^{-1} (9.5 g m^{-2} day^{-1}), and from day 9 to day 12, with an average daily productivity of 0.088 g L^{-1} day^{-1} (8.8 g m^{-2} day^{-1}). On average, the productivity of *T. viridis* with CO_2 supply was 1.4-fold higher than in the control treatment. The maximum specific growth rate in terms of biomass (μ_B) was 0.43 day^{-1}, recorded on day 2, and thereafter decreased exponentially to 0.06 day^{-1} by day 11. The maximum biomass with additional carbon supply reached 1.12 g L^{-1} (112 g m^{-2} on a surface-area basis). Consequently, the total yield over the entire cultivation period amounted to 103 g m^{-2}, which was 2.4-fold higher than the total yield in the treatment without additional inorganic carbon supply.

In addition to determining the culture density in terms of biomass, the dynamics of cell abundance in the culture (Fig. 3A) and the biomass to cell number ratio (*B/N*), which indirectly reflects the average cell size (Fig. 3B), were assessed.

In the control treatment, linear growth of *T. viridis* cell number occurred from day 4 to day 6, similar to the linear phase of biomass growth. The maximum cell number in the control treatment reached 12.27×10^6 cells mL^{-1}. The specific growth rate in terms of cell number (μ_N) was recorded on the first day of the experiment (0.74 day^{-1}), after which it sharply decreased, becoming zero or negative after day 7. Along with this, after day 7 an increase in the *B/N* ratio from 36.6 to 50.5 pg $cell^{-1}$ was observed, indicating an increase in cell size in the culture.

Under CO_2 supply, microalgal cell growth was more active than in the control. The maximum cell number reached 39.8×10^6 cells mL^{-1}, which was 3.2-fold higher than in the control. The maximum specific growth rate in terms of cell number (μ_N) was 0.53 day^{-1}, recorded on day 2 of the experiment, consistent with the biomass-based growth rate. The biomass-to-cell number ratio (*B/N*) remained more stable than in the control, ranging from 24 to 31 pg $cell^{-1}$. Furthermore, during the active growth phase, the *B/N* ratio under CO_2 supply was on average 1.4-fold lower than in the control.

Based on the daily dynamics of culture density, daytime production (Fig. 2D) and night biomass loss were calculated for the *T. viridis* culture. In the control treatment, daytime production during the linear growth phase (days 4–6) was 10.2 g m^{-2}, while the average over the entire batch cultivation period was 7.75 g m^{-2}. Under supplemental CO_2 supply, daytime production was significantly higher (14.6 g m^{-2}). Under carbon-enriched conditions, a positive correlation was observed between daily production and total daily irradiance ($r = 0.42$), whereas no such correlation was found in the control. In both treatments, biomass accumulation continued throughout the entire daylight period, with the highest hourly biomass increment occurring in the middle of the day (12:00–14:00).

The nighttime biomass loss (expressed as a percentage of the biomass at the end of the daylight period, NBL_B) in the control treatment averaged 12.5 % of the biomass, whereas under CO_2 supply it was lower, averaging 9.5 % (Fig. 4A). In both treatments, the highest NBL_B values were observed at the beginning of batch cultivation and towards the end of the experiment, while the minimum values occurred between days 5

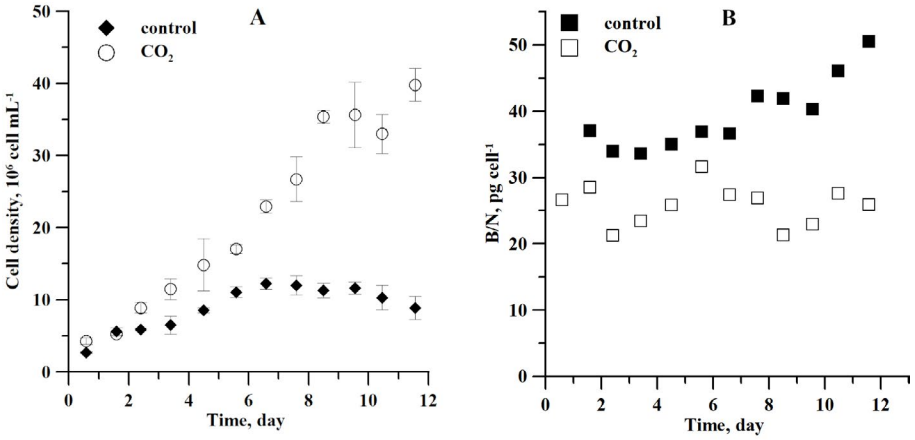


Fig.3. Dynamics of cell number (A) and the biomass/cell number *(B/N)* ratio (B) during batch cultivation of *T. viridis* under natural illumination with different carbon supply. CO_2 is a treatment with additional carbon dioxide supply.

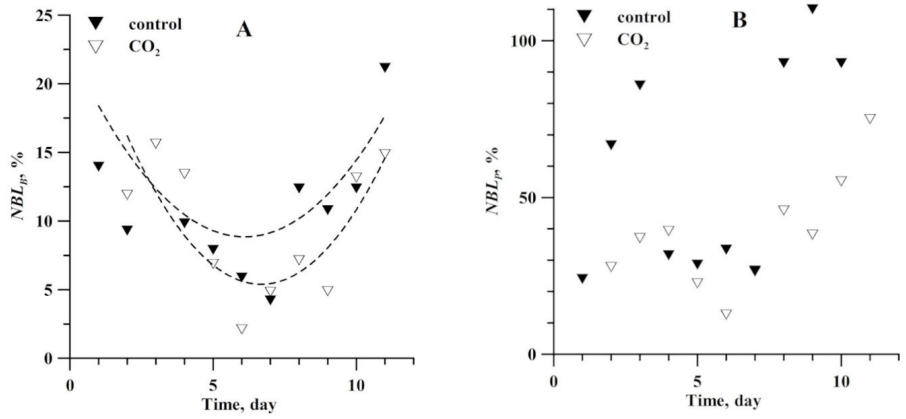


Fig.4. Night biomass loss as a fraction of biomass (A) and as a fraction of daytime production (B) in *T. viridis* batch culture under natural illumination with different carbon supply. Dashed line is a trend line. CO_2 is a treatment with additional carbon dioxide supply.

and 8. For the CO_2-supplemented treatment, a significant correlation was found between NBL_B and daytime production ($r = 0.55$), whereas in the control the correlation was positive but not significant ($r = 0.23$).

The nighttime biomass loss as a fraction of daytime production (NBL_P) ranged from 20 to 40 % of the daily production up to day 7, after which it increased substantially. In the treatment without additional carbon supply, NBL_P could reach 100 % and even exceed the daily production (Fig. 4B).

To assess the efficiency of solar energy utilization by the *T. viridis* culture, the photosynthetic efficiency was calculated. In both experimental treatments, a negative correlation was found between photosynthetic efficiency and total irradiance, with correlation coefficients of $r = –0.79$ in the control and $r = –0.41$ in the CO_2-supplemented treatment. Thus, as insolation intensity increased, the efficiency of its conversion into biomass decreased (Fig. 5). Since upon CO_2 addition to the culture, daily production and growth rate on day 1 were atypically low and deviated from the general trend (Fig. 2C, Fig. 2D), the photosynthetic efficiency value on day 1 (3.2 %) was excluded from the calculation of the relationship with irradiance.

The addition of CO_2 enhanced photosynthetic efficiency. In the control treatment, photosynthetic efficiency varied between 2.7 and 12.8% (mean 7.1%), whereas with CO_2 supplementation, it ranged from 3.2 to 17.7% (mean 12%).

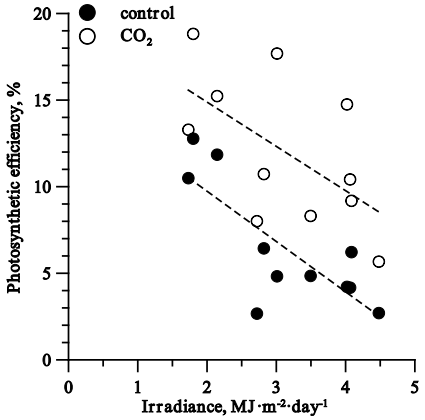


Fig.5. Relationship between photosynthetic efficiency in *T. viridis* culture and total daily irradiance under natural illumination with different carbon supply. Dashed line are linear approximations. CO_2 is a treatment with additional carbon dioxide supply.

4. Discussion

The pilot-scale experimental cultivation of *T. viridis* allowed both the assessment of its production characteristics under natural diurnal light cycles and the evaluation of the effect of inorganic carbon availability on culture growth and biomass accumulation.

Under pilot-scale conditions with natural solar illumination, supplying the microalgal *T. viridis* culture with CO_2 as a carbon source resulted in a substantial increase in production parameters. Specifically, the maximum average daily productivity during the linear growth phase (P_m) increased 1.46-fold, reaching 9.5 g m^{-2} day^{-1}, while daily production rose 1.9-fold, up to 14.6 g m^{-2}. In the control treatment without additional carbon supply, batch growth ceased after 8 days, apparently due to carbon limitation. Owing to both a longer growth period and higher productivity, the maximum culture density under CO_2 supply reached 1.12 g L^{-1}, and the total biomass yield over the cultivation period (103 g m^{-2}) was 2.4-fold higher than that in the control.

In addition to atmospheric air, carbon supply for microalgal cultures can be provided in inorganic form (carbon dioxide or sodium bicarbonate) or as organic substrates (Agbebi et al., 2022). Supplying inorganic carbon as CO_2 in dense microalgal cultures not only increases the concentration of inorganic carbon in the medium but also helps to maintain an optimal pH (Moheimani, 2013a). In dense cultures of microalgae and cyanobacteria, the consumption of CO_2 during photosynthesis leads to a rise in pH, which in turn shifts the carbonate equilibrium toward CO_3^{2-} – a form of carbon that is unavailable to algal cells (Shiraiwa et al., 1993). Furthermore, bicarbonate uptake by cells requires additional energy expenditure for the functioning of carbonic anhydrases (Moheimani, 2013a). In the present study, it was observed that in the absence of CO_2 supply, pH increased both over the course of batch cultivation

and during the daylight period. At night, pH declined due to dark respiration and CO_2 release into the medium by the microalgal cells. A similar pattern of diurnal pH dynamics was observed in cultures of *Tetraselmis suecica* and *Chlorella* sp. (Moheimani, 2013a). It is likely that the pH rise above the optimal level limited carbon uptake and thus significantly restricted the overall biomass yield in the control treatment in the current research. An additional factor negatively affecting algal growth at elevated pH is the possible precipitation of calcium, magnesium, phosphorus, and trace element salts. The ability to grow at pH >10 in industrially significant microalgae such as *Chlorella*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Tetraselmis*, and cyanobacteria (*Limnospira*) may be explained both by a lower requirement for trace elements and by the release of chelating compounds into the medium, which prevent trace element precipitation (Goldman et al., 1982; Thomas et al., 2026). Nevertheless, elevated pH may promote lipid accumulation through alterations in cellular metabolism, accelerate CO_2 uptake from atmospheric air, and also prevent bacterial and protozoan contamination of the culture (Shiraiwa et al., 1993; Thomas et al., 2026).

The cultivation system was designed to resemble open ponds used in industrial microalgal production; therefore, tap water was used for medium preparation and to compensate for evaporation. According to local standards, drinking tap water may contain bicarbonate concentrations of up to 400 mg L^{-1}. According to the water quality report (https://sevvodokanal.org.ru/pages/kachestvo), the water hardness was 3.7 ± 0.6 units, which corresponds to an approximate bicarbonate concentration of 226 mg L^{-1}. In studies on microalgal growth, bicarbonate concentrations typically range from 0.2 to 5 g L^{-1} or higher, while concentrations below 0.5 g L^{-1} do not significantly affect the growth rate (Borovkov et al., 2026). Thus, the bicarbonate concentration in the tap water was not high enough to influence the carbon supply of the microalgal culture.

Earlier studies on the growth of *T. viridis* in open ponds reported average daily productivity ranging from 4.2 to 14.4 g m^{-2} day^{-1} (Zhondareva and Trenkenshu, 2019; Gorbunova and Avsiyan, 2022). However, higher maximum productivity values were observed in summer, under higher solar irradiance. In those studies, the linear growth phase was short-lived, and the maximum biomass reached 49 g m^{-2}, which is comparable to the maximum biomass in the present control treatment but substantially lower than the maximum biomass achieved with CO_2 addition.

Furthermore, the production characteristics of *T. viridis* in this study are similar to those reported for other *Tetraselmis* species under natural illumination. In open raceway ponds, the productivity of *Tetraselmis suecica* was 48–92 mg L^{-1} day^{-1}, which, at a working depth of 20 cm, corresponds to areal productivity of 9.6–18.4 g m^{-2} day^{-1} (Cuello et al., 2015). *Tetraselmis* sp. cultivated in raceway ponds in autumn in Australia exhibited a productivity of 36 mg L^{-1} day^{-1} (or 7.2 g m^{-2} day^{-1}) without CO_2 addition, which is very similar to the values obtained in our control treatment (Raes et al., 2014). The productivity of *T. suecica* in bag-type photobioreactors in Australia was approximately 110 mg L^{-1} day^{-1} (Moheimani, 2013b). Chini Zitelli et al. (2006) reported that the productivity of *T. suecica* cultivated in Italy in August reached 36–38 g m^{-2} day^{-1}. However, that value was achieved in vertical tubular photobioreactors under higher irradiance levels.

The productivity of microalgal cultures under natural illumination is determined by both mineral and carbon nutrition conditions, as well as by the climatic factors of the cultivation site. Among the environmental factors, irradiance in the photosynthetically active radiation (PAR) range is the most important. The present study on the growth of *T. viridis* was conducted in spring under mid-latitude conditions, with an average daily PAR irradiance of 3 MJ m^{-2} day^{-1}. The positive correlation between daily production and daily irradiance observed under CO_2 addition suggests that supplementary carbon supply at higher irradiance levels would enable higher production performance for this microalgal species.

With additional carbon supply, the *T. viridis* culture exhibited increased cell number and division rates, along with a lower *B/N* ratio, indicating a smaller average cell size. The reduced division rate and cell enlargement observed in the control treatment may be attributable to unfavorable conditions limiting cell division, caused by carbon substrate deficiency and elevated pH.

Growth of the *T. viridis* culture occurred throughout the entire daylight period; however, even under conditions of maximum productivity, night biomass loss ranged from 20 to 40% of the daytime production. Accordingly, harvesting in the evening is advisable to minimize such losses.

Night biomass loss in microalgal cultures often increases with growth rate due to enhanced growth respiration. For instance, a linear relationship between daily yield (productivity) and night biomass loss has been demonstrated for *Tetraselmis suecica* (Michels et al., 2014). However, the present study showed that for *T. viridis*, carbon supplementation not only increased daily and average daily production but also reduced night biomass loss. Similarly, it was shown for *Limnospira platensis* that a decrease in inorganic carbon concentration (in the form of sodium bicarbonate) led to an increase in nighttime biomass loss (Avsiyan and Gevorgiz, 2025). It is likely that carbon limitation of culture growth requires additional energy expenditure, particularly for the operation of CO_2-concentrating mechanisms.

CO_2 supplementation enhanced the efficiency of solar energy utilization by the microalgal culture, with the light-to-biomass conversion efficiency reaching up to 17% (12% on average), which is a relatively high value. For comparison, growth of *Tetraselmis suecica* in tubular photobioreactors achieved a photosynthetic efficiency of 9.4% (Chini Zittelli et al., 2006).

Overall, the study demonstrated stable growth of *T. viridis* culture in open ponds during spring under the mid-latitude climatic conditions. The effect of carbon supply in the form of CO_2 on the production charac-

teristics of this microalga under natural solar illumination was established, enabling an increase in the productivity of cultivation systems and offering prospects for simultaneous CO_2 sequestration and biomass production. Future research may include evaluating the effect of carbon supply on the productivity of *T. viridis* in terms of specific biomass components, such as lipids and pigments, as well as conducting a techno-economic analysis that compares the additional operational costs against the biomass value for large-scale cultivation systems.

5. Conclusions

The pilot-scale cultivation of *T. viridis* under mid-latitude climate conditions revealed that supplementary carbon supply increases both productivity and maximum biomass, while also improving the efficiency of solar energy conversion. To further optimize biotechnological production systems for *T. viridis*, a more comprehensive techno-economic analysis is necessary, accounting for the costs of CO_2 as well as the capital investment required for the specific CO_2 delivery system.

Acknowledgements

This work was carried out within the framework of IBSS state research assignment “Comprehensive study of the functioning mechanisms of marine biotechnological complexes with the aim of obtaining bioactive substances from hydrobionts” (No. 124022400152-1).

Conflict of interest

The authors declare no conflicts of interest.

References

Agbebi T.V., Ojo E.O., Watson I.A. 2022. Towards optimal inorganic carbon delivery to microalgae culture. Algal Research 67:102841. DOI: 10.1016/j.algal.2022.102841

Avsiyan A.L., Gevorgiz R.G. 2025. Influence of carbon and light supply on productivity and night biomass loss in *Limnospira (Spirulina) platensis* under natural illumination. In: Baltiyskiy morskoy forum [Baltic Sea Forum]: Proceedings of the XIII International Baltic Sea Forum: in 6 volumes. Volume 3. Aquatic bioresources, aquaculture and ecology of water bodies, pp. 5–11. (in Russian)

Borovkov A.B., Gevorgiz R.G. 2005. Production *Spirulina platensis* and *Tetraselmis viridis* by different methods cultivation. Ecologiya morya [Ecology of the Sea] 70: 9–13. (in Russian)

Borovkov A.B., Rylkova O.A., Gudvilovich I.N. et al. 2026. Growth and morphometric characteristics of the microalga *Porphyridium purpureum* (Bory) Ross using sodium bicarbonate as a carbon source. Bioresource Technology Reports 33:102615. DOI: 10.1016/j.biteb.2026.102615

Chini Zittelli C., Rodolfi L., Biondi N. et al. 2006. Productivity and photosynthetic efficiency of outdoor cultures of *Tetraselmis suecica* in annular columns. Aquaculture 261(3): 932–943. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2006.08.011

Cuello M.C., Cosgrove J.J., Randhir A. et al. 2015. Comparison of continuous and day time only mixing on *Tetraselmis suecica* (Chlorophyta) in outdoor raceway ponds. Journal of applied phycology 27(5): 1783-1791. DOI: 10.1007/s10811-014-0420-5

Edmundson S.J., Huesemann M.H. 2015. The dark side of algae cultivation: Characterizing night biomass loss in three photosynthetic algae, *Chlorella sorokiniana*, *Nannochloropsis salina* and *Picochlorum* sp. Algal research 12: 470–476. DOI: 10.1016/j.algal.2015.10.012

Goldman J.C., Azov Y., Riley C.B. et al. 1982. The effect of pH in intensive microalgal cultures. I. Biomass regulation. Journal of experimental marine biology and ecology 57(1): 1–13. DOI: 10.1016/0022-0981(82)90140-X

Gorbunova S.Y., Avsiyan A.L. 2022. Diurnal dynamics of green microalga *Tetraselmis viridis* culture density in open pond monitored by optical density sensor. Bioresource Technology Reports 20: 101251. DOI: 10.1016/j.biteb.2022.101251

Harrison P.J., Waters R.E., Taylor F.J.R. 1980. A broad spectrum artificial seawater medium for coastal and open ocean phytoplankton. Journal of Phycology 16: 28–35. DOI: 10.1111/j.0022-3646.1980.00028.x

Holdmann C., Schmid-Staiger U., Hirth T. 2019. Outdoor microalgae cultivation at different biomass concentrations—assessment of different daily and seasonal light scenarios by modeling. Algal Research 38: 101405. DOI: 10.1016/j.algal.2018.101405

Isdepsky A., Borowitzka M.A. 2019. In-pond strain selection of euryhaline *Tetraselmis* sp. strains for reliable long-term outdoor culture as potential sources of biofuel and other products. Journal of Applied Phycology 31(6): 3359–3370. DOI: 10.1007/s10811-019-01873-y

Lelekov A.S., Trenkenshu R.P. 2007. Simplest models of microalgae growth 4. Exponential and linear growth phases of microalgae culture. Ekologiya Morya [Ecology of the Sea] 7: 47–49. (in Russian)

López-Hernández J.F., Kean-Meng T., Asencio-Alcudia G.G. et al. 2022. Sustainable microalgae and cyanobacteria biotechnology. Applied Sciences 12(14): 6887. DOI: 10.3390/app12146887

Mehariya S., Annamalai S.N., Thaher M.I. et al. 2024. A comprehensive review on versatile microalga *Tetraselmis*: Potentials applications in wastewater remediation and bulk chemical production. Journal of Environmental Management 365: 121520. DOI: 10.1016/j.jenvman.2024.121520

Michels M.H.A., Slegers P.M., Vermuë M.H. et al. 2014. Effect of biomass concentration on the productivity of *Tetraselmis suecica* in a pilot–scale tubular photobioreactor using natural sunlight. Algal Research 4: 12–18. DOI: 10.1016/j.algal.2013.11.011

Moheimani N.R. 2013. Inorganic carbon and pH effect on growth and lipid productivity of *Tetraselmis suecica* and *Chlorella* sp (Chlorophyta) grown outdoors in bag photobioreactors. Journal of Applied Phycology 25(2): 387–398. DOI: 10.1007/s10811-012-9873-6

Moheimani N.R. 2013. Long-term outdoor growth and lipid productivity of *Tetraselmis suecica*, *Dunaliella tertiolecta* and *Chlorella* sp (Chlorophyta) in bag photobioreactors. Journal of Applied Phycology 25(1): 167–176. DOI: 10.1007/s10811-012-9850-0

Novoveská L., Nielsen S.L., Eroldoğan O.T. et al. 2023. Overview and challenges of large-scale cultivation of photosynthetic microalgae and cyanobacteria. Marine drugs 21(8): 445. DOI: 10.3390/md21080445

Paterson S., Gómez-Cortés P., de la Fuente M.A. et al. 2023. Bioactivity and digestibility of microalgae *Tetraselmis* sp. and *Nannochloropsis* sp. as basis of their potential as novel functional foods. Nutrients 15(2): 477. DOI: 10.3390/nu15020477

Qiang H., Guterman H., Richmond A. 1996. Physiological characteristics of *Spirulina platensis* (Cyanobacteria) cultured

at ultrahigh cell densities. Journal of Phycology 32(6): 1066–1073. DOI: 10.1111/j.0022-3646.1996.01066.x

Raes E.J., Isdepsky A., Muylaert K. et al. 2014. Comparison of growth of *Tetraselmis* in a tubular photobioreactor (Biocoil) and a raceway pond. Journal of Applied Phycology 26(1): 247–255. DOI: 10.1007/s10811-013-0077-5

Sarker N.K., Kaparaju P. 2023. A critical review on the status and progress of microalgae cultivation in outdoor photobioreactors conducted over 35 years (1986–2021) Energies 16(7): 3105. DOI: 10.3390/en16073105

Sarmah M., Panda M.R. 2026. Systematic review on proliferation of microalgae and carbon sequestration potential for sustainability. World Journal of Microbiology and Biotechnology 42(3): 100. DOI: 10.1007/s11274-026-04849-6

Shiraiwa Y., Goyal A., Tolbert N.E. 1993. Alkalization of the medium by unicellular green algae during uptake dissolved inorganic carbon. Plant and cell physiology 34(5): 649–657. DOI: 10.1093/oxfordjournals.pcp.a078467

Thomas P.K., Gerlach R., Narwani A. 2026. Hunting for Extremophiles: A Systematic Screening of Freshwater Microalgae for Tolerance to High-pH and High-Alkalinity Cultivation. ACS Sustainable Chemistry & Engineering 14(9): 4376–4386. DOI: 10.1021/acssuschemeng.5c09906

Trenkenshu R.P., Terskov I.A., Sidko F.Ya. 1981. Dense cultures of marine microalgae. Proceedings of SB AS USSR (ser. Biol.) [Izvestiya SO AN SSSR (ser. Biol.)] 15(3): 75–82. (in Russian)

Tulli F., Chini Zittelli G., Giorgi G. et al. 2012. Effect of the inclusion of dried *Tetraselmis suecica* on growth, feed utilization, and fillet composition of European sea bass juveniles fed organic diets. Journal of aquatic food product technology 21(3): 188–197. DOI: 10.1080/10498850.2012.664803

Zheng Q., Xu X., Martin G.J. et al. 2018. Critical review of strategies for CO_2 delivery to large-scale microalgae cultures. Chinese journal of chemical engineering 26(11): 2219–2228. DOI: 10.1016/j.cjche.2018.07.013

Zhondareva Y.D., Trenkenshu R.P. 2019. Growth of *Tetraselmis viridis* (Rouchijajnen) R.E.Norris, Hori & Chihara 1980 in the greenhouse pool under natural light and aeration. Voprosy sovremennoi algologii [Issues of modern algology] 3(21): 76–87. DOI: 10.33624/2311-0147-2019-3(21)-76-87 (In Russian)

Zhu C., Hu C., Wang J. et al. 2023. A precise microalgae farming for CO_2 sequestration: a critical review and perspectives. Science of the Total Environment 901: 166013. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2023.166013

NASA Langley Research Center (LaRC) POWER Project. 2026. URL: https://power.larc.nasa.gov/data-access-viewer/ Visited: May 28, 2026.

Оригинальная статья

Продукционные характеристики *Tetraselmis viridis* (Chlorophyta) в условиях естественного освещения при повышении обеспеченности углеродом

Авсиян А.Л.*

Федеральный исследовательский центр «Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН», проспект Нахимова, 2, Севастополь, 299011, Россия

АННОТАЦИЯ. Для разработки устойчивых биотехнологий производства биомассы микроводорослей требуются оптимизация условий культивирования и оценка продуктивности при естественном освещении, учитывающие естественную динамику факторов среды. Целью данного исследования была оценка влияния углеродного обеспечения на продукционные характеристики, суточную динамику роста и ночную потерю биомассы при полупромышленном культивировании зелёной микроводоросли *Tetraselmis viridis* в условиях юга России (средние широты). Эксперимент проводили в накопительном режиме в открытых бассейнах при естественном солнечном освещении в весенний период. В контроле не использовалось дополнительного источника углерода, помимо атмосферного воздуха, а в опыте производилась подача CO_2 в культуру с поддержанием pH до 8.5. Определяли биомассу, численность клеток, рассчитывали среднесуточную продуктивность, дневную продукцию, ночную потерю биомассы и КПД фотосинтеза. Показано, что в контрольном варианте накопительный рост был ограничен 8 сутками, максимальная среднесуточная продуктивность составила 6.5 г $м^{-2}$ $сут^{-1}$, общий урожай – 43.5 г $м^{-2}$, а рост лимитировался повышением pH до 10.5–10.8. Дополнительная подача CO_2 увеличила продуктивность в 1.4 раза (до 9.5 г $м^{-2}$ $сут^{-1}$), дневную продукцию – в 1.9 раза (до 14.6 г $м^{-2}$), максимальную биомассу – до 1.12 г·$л^{-1}$, а общий урожай – в 2.4 раза (103 г $м^{-2}$). При этом ночная потеря биомассы снизилась с 12.5 % до 9.5 % от вечерней биомассы, а КПД фотосинтеза повысился с 7.1 % до 12 % в среднем (до 17 % в отдельные дни). Показано, что в условиях обеспеченности углеродом ночная потеря биомассы положительно коррелирует с дневной продукцией. Также показано, что КПД фотосинтеза отрицательно коррелирует с суточной облучённостью. Таким образом, обеспечение культуры *T. viridis* углекислым газом не только устраняет углеродное лимитирование и способствует более длительному линейному росту, но и повышает эффективность использования солнечной энергии, снижая ночные потери. Полученные результаты могут служить основой для оптимизации технологий культивирования *T. viridis* в открытых системах с целью получения биомассы для аквакультуры, биотоплива и других биотехнологических применений.

Ключевые слова: микроводоросли, *Tetraselmis*, полупромышленное культивирование, продуктивность, углеродное обеспечение

Для цитирования: Авсиян А.Л. Продукционные характеристики *Tetraselmis viridis* (Chlorophyta) в условиях естественного освещения при повышении обеспеченности углеродом // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - С. 505-522. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-505

1. Введение

В современной биоэкономике наблюдается устойчивая тенденция расширения применения микроводорослей и цианобактерий в области пищевой промышленности, сельского хозяйства и аквакультуры, фармации и производства диетических добавок, биоремедиации и разработки биотоплива (López-Hernández et al., 2022). Микроводоросль *Tetraselmis viridis* (Chlorodendrophyceae, Chlorophyta) благодаря быстрому росту и значительному содержанию липидов является перспективным объектом для альгобиотехнологии, а также рассматривается

*Автор для переписки. Адрес e-mail: anna_avs@ibss-ras.ru (А.Л. Авсиян)

Поступила: 29 июня 2026;
Принята после доработки: 28 июля 2026;
Опубликована online: 28 августа 2026

© Автор(ы) 2026. Эта работа распространяется под международной лицензией Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.

в качестве потенциального объекта для биотоплива (Isdepsky and Borowitzka, 2019). Широкий диапазон устойчивости к солености и температуре представителей рода *Tetraselmis* способствует их применению в крупномасштабных биотехнологических производствах (Mehariya et al., 2024). Благодаря высокой нутритивной ценности, в том числе содержанию полиненасыщенных жирных кислот, *Tetraselmis* часто применяется в качестве кормового объекта в аквакультуре (Tulli et al., 2012), а также имеет перспективы для обогащения функциональных продуктов питания (Paterson et al., 2023).

Для устойчивого производства биомассы и ценных компонентов микроводорослей необходима разработка технологий культивирования, учитывающих: видовые особенности штамма (продуктивность, требования к факторам среды), систему культивирования (конструкцию фотобиореакторов, режим культивирования), климатические особенности места культивирования, в особенности суточную и сезонную динамику освещённости и температуры. Большинство биотехнологических производств микроводорослей и цианобактерий функционирует с использованием солнечной световой энергии с использованием открытых бассейнов или закрытых фотобиореакторов (Novoveská et al., 2023). Хотя при естественном освещении микроводоросли эффективно используют солнечную энергию, что существенно снижает эксплуатационные затраты по сравнению с искусственным освещением, в ночной фазе наблюдается потеря биомассы из-за темнового дыхания (Edmundson and Huesemann, 2015). Кроме того, на продуктивность культуры в полупромышленных условиях влияют изменчивые факторы среды (освещённость, температура), эффект масштабирования и обеспечение углеродным питанием, необходимым для фотосинтеза. Однако лабораторные условия не позволяют точно прогнозировать продуктивность штаммов в динамично меняющихся условиях открытых бассейнов, поэтому необходимы испытания в условиях естественного освещения и разработка режимов культивирования, учитывающих реальные суточные колебания света и температуры (Holdmann et al., 2019; Sarker and Kaparaju, 2023). Юг России, и в частности Крымский регион, обладает рядом преимуществ для биотехнологических производств микроводорослей при естественном освещении: достаточная продолжительность светового дня и количество солнечной энергии, мягкий климат, позволяющий получать урожай даже в осенние и весенние месяцы, близость источника морской воды для культивирования морских видов микроводорослей.

При достаточном уровне освещённости и обеспеченности элементами минерального питания недостаток источника углерода может приводить к ограничению продукционных характеристик. Повышение доступности углерода в среде достигается за счёт внесения газообразного CO_2, бикарбонатов в фотоавтотрофных культурах, либо в виде органических источников углерода (глюкоза, глицерин) в миксотрофных культурах микроводорослей и цианобактерий (Agbebi et al., 2022; Zhu et al., 2023). Использование CO_2 в качестве источника неорганического углерода при культивировании микроводорослей и цианобактерий позволяет не только устранить ограничение роста, связанное с недостатком углерода, но и осуществлять секвестрацию углекислого газа (Agbebi et al., 2022; Zhu et al., 2023). Эффективность секвестрации CO_2 и продуктивность культур микроводорослей зависят от комплекса факторов, включающих как способ подачи углерода в систему культивирования (Zheng et al., 2018), так и конструкцию фотобиореактора, освещённость, температуру и физиологические характеристики используемого штамма микроводорослей (Zhu et al., 2023; Sarmah and Panda, 2026).

Исследования роста *T. viridis* в условиях открытых бассейнов при естественном освещении довольно малочисленны. Например, в работе (Жондарева и Тренкеншу, 2019) проводилось исследование роста в летний период, но без оценки суточной динамики продукционных характеристик. В то время как в работе (Gorbunova and Avsiyan, 2022) рассматривалась суточная динамика плотности культуры *T. viridis*, однако период исследования был ограничен тремя сутками.

Целью данной работы была оценка влияния углеродного обеспечения на продукционные характеристики *T. viridis* при полупромышленном культивировании на естественном освещении в условиях региона Севастополь, в том числе на суточную динамику ростовых характеристик в зависимости от естественных суточных циклов солнечного освещения.

2. Материалы и методы

2.1. Штамм микроводоросли и питательная среда

В качестве объекта исследования использовали альгологически чистую культуру зеленой одноклеточной микроводоросли *Tetraselmis viridis* (Roukhijajnen) R.E.Norris, Hori & Chihara 1980. Исследовали штамм IBSS-25 из ЦКП «Коллекция гидробионтов Мирового океана» Федерального исследовательского центра «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН» (ФИЦ ИнБЮМ). Штамм IBSS-25 выделен из Черного моря в 1987 г. Для культивирования использовали питательную среду для морских микроводорослей по Тренкеншу и др. (1981) со следующим составом, г $л^{-1}$: $NaNO_3$ – 1.8; $NaH_2PO_4 \times 2H_20$ – 0.3; EDTA-Na_2 – 0.037; $FeC_6H_5O_7 \times 3H_20$ – 0.042; $MnCl_2 \times 4H_20$ – 0.008; $Co(NO_3)_2 \times 6H_20$ – 0.00625; $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \times 4H_20$ – 0.00183; $K_2Cr_2(SO_4)_2 \times 4H_20$ – 0.00238). Для приготовления питательной среды использовали искусственную морскую воду (Harrison et al., 1980). В качестве инокулята использовали культуру *T. viridis*, предварительно адаптированную к условиям культивирования при естественном освещении на протяжении пяти суток. Начальная плотность культуры по биомассе составляла 0.09 г $л^{-1}$, а начальная численность клеток в культуре – 4.31 $\times$ 10^6 кл $мл^{-1}$.

2.2. Условия культивирования

Культивирование микроводорослей осуществляли в открытых бассейнах, расположенных в тепличном альгобиотехнологическом модуле ФИЦ ИнБЮМ, г. Севастополь (N. 44°61.564′, E. 33°50.463′) в весеннее время (последняя декада марта). В качестве фотобиореакторов использовали прямоугольные бассейны (1 × 1 м), выстеленные полиэтиленовой пленкой. Площадь поверхности бассейна составляла 1 м^2, высота слоя культуры – 10 см, объём культуры – 100 л. Выращивание производилось в накопительном режиме в течение 12 суток. Высоту слоя и объем клеточной суспензии поддерживали постоянными, путём ежедневного добавления водопроводной воды перед отбором проб для компенсации испарения. Качество водопроводной воды соответствовало СанПиН 1.2.3685-21. Дополнительная стерилизация воды не проводилась.

Суспензия микроводорослей непрерывно перемешивалась с помощью электрических аквариумных насосов (Atman AT-202 (Chuangxing Electrical Appliances Co., Ltd, Китай) со скоростью 1200 л ч$^{-1}$. Уровень освещённости определялся естественной величиной солнечной облученности, с учетом 50% ослабления видимого света за счет прохождения через поликарбонатную теплицу. Продолжительность светового дня составляла от 12 до 12.5 ч. Температуру культуры микроводорослей поддерживали на уровне не ниже 23 °C с помощью аквариумного обогревателя Atman AT-50W (Atman, Китай). В контрольном варианте не проводилось дополнительного внесения источника углерода, источником CO_2 для роста служил атмосферный воздух. В эксперименте в качестве источника углеродного питания использовали CO_2, подача которого контролировалась при помощи pH-контроллера Aqua Medic pH 2001 (Aqua Medic, Германия), уровень pH поддерживали на уровне от 6.8 до 8.5 единиц. При повышении pH культуры в бассейне выше 8.5 сигнал от датчика поступал на pH-контроллер, и включалась подача газообразного CO_2 в культуру через ПВХ-трубку, оканчивающуюся иглой с внутренним диаметром 0.5 мм. В каждом варианте было по две повторности.

2.3. Аналитические методы и расчёты

Отбор проб для определения плотности культуры, температуры и pH проводили пять раз в течение светового дня с 9:30 до 18:00 каждые 2–2.5 часа. Температуру суспензии измеряли ртутным термометром, с абсолютной погрешностью измерений ± 0.5 °C, pH культуры измеряли с помощью pH-метра И-150 (ООО Измерительная техника, Россия). Величину суммарной суточной облучённости в области фотосинтетически активной радиации (ФАР) определяли на основе данных LARS NASA Power Project (https://power.larc.nasa.gov/data-access-viewer/) с учётом ослабления облучённости в поликарбонатной теплице. Использовался сотовый тепличный поликарбонат с УФ-фильтром толщиной 4 мм. Предварительно проведенное исследование показало, что облученность в области фотосинтетически активной радиации в теплице снижалась на 50%. Динамика температуры культуры, поверхностной облученности и pH клеточной суспензии в течение эксперимента представлена на Рис. 1.

Плотность культуры определяли фотометрическим методом. Оптическую плотность культуры измеряли в стеклянных кюветах с длиной светового пути 5 мм на длине волны 750 нм, используя фотометр Unico-2100 (UNICO (Shanghai) Instrument Co. Ltd, Китай). Для пересчета единиц оптической плотности (D_{750}, ед.опт.пл) в единицы сухого веса биомассы (B, г л$^{-1}$) использовали предварительно определенный коэффициент $k = 0.8$ г л$^{-1}$ ед.опт.пл$^{-1}$ (Боровков и Геворгиз, 2005):

$$B = k \cdot D_{750}.$$

Определение численности клеток (N, кл. мл$^{-1}$) путём подсчёта в камере Горяева (Минимед, Россия) под световым микроскопом Carl Zeiss Axiostar Plus (Carl Zeiss, Германия) осуществляли один раз в сутки. Одновременно с этим, при световой микроскопии проводилась оценка чистоты культуры и отсутствия контаминации посторонними микроводорослями или простейшими.

Максимальную среднесуточную продуктивность (P_m) рассчитывали путём аппроксимации кривой роста по биомассе на линейной стадии роста:

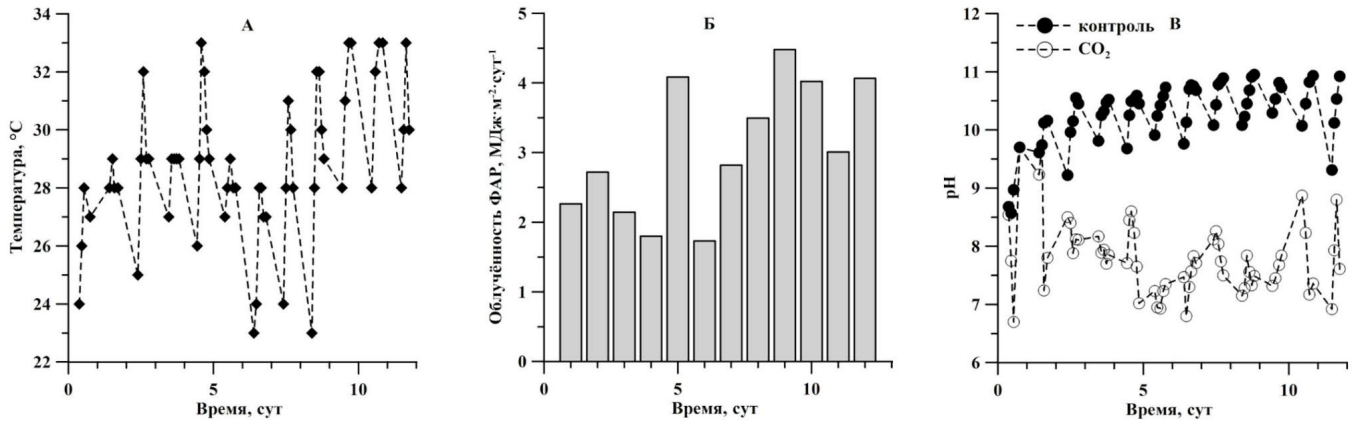


Рис.1. Условия культивирования: температура клеточной суспензии (А), солнечная облучённость поверхности культуры в области ФАР (Б) и pH клеточной суспензии (В) в течение полупромышленного роста культуры *T. viridis*. CO_2 – вариант с дополнительным внесением углекислого газа.

$$B = B_l + P_m \times (t - t_l),$$

где B_l – плотность культуры на линейной стадии роста; t_l – время в начале линейной стадии роста (Лелеков и Тренкеншу, 2007).

Удельную скорость роста по биомассе (μ_B) рассчитывали следующим образом:

$$\mu_B = \ln(B_2) - \ln(B_1) / t,$$

где B_2 – конечная биомасса, B_1 – начальная биомасса, t – время.

Удельную скорость роста по численности клеток (μ_N) рассчитывали как:

$$\mu_N = \ln(N_2) - \ln(N_1) / t,$$

где N_2 – конечная численность, N_1 – начальная численность, t – время.

Общую ночную потерю биомассы (НПБ) как долю от биомассы в конце светового периода (NBL_B) рассчитывали, используя следующее выражение:

$$NBL_B = ((B_L' - B_D)/B_L) \cdot 100\%;$$

НПБ как доля от продукции за предыдущий световой период рассчитывали, используя следующее выражение:

$$NBL_P = ((B_L' - B_D)/(B_L' - B_D')) \cdot 100\%,$$

где B_L' – плотность культуры в конце предыдущего светового периода, B_D – плотность культуры в конце темнового периода, B_D' – плотность культуры в конце предыдущего темнового периода (Qiang et al., 1996).

Дневную продукцию определяли как разность плотности культуры в конце и в начале светового дня. Пересчёт продукционных параметров культуры (плотность, продуктивность) на единицу площади проводили с учётом соотношения 100 л м$^{-2}$ при глубине слоя культуры 10 см.

Величину КПД фотосинтеза рассчитывали, как отношение запасённой энергии (произведение дневной продукции на единицу площади (г м$^{-2}$ сут$^{-1}$) и калорийности биомассы) к поглощенной солнечной энергии ФАР в расчёте на единицу площади (кДж·м$^{-2}$·сут$^{-1}$), учитывая то, что в плотной культуре вся падающая световая энергия поглощалась. Калорийность биомассы *T. viridis* считали равной 24.2 кДж г$^{-1}$ (Chini Zittelli et al., 2006).

2.4. Статистический анализ

Статистический анализ экспериментальных данных выполнялись с использованием программного обеспечения Grapher3 (Golden Software) и Microsoft Excel (Microsoft Office). Рассчитывали среднее арифметическое ($\overline{x}$), стандартное отклонение (SD), ошибку среднего, доверительные интервалы (ДИ) для среднего ($\Delta\overline{x}$). Достоверность различий между выборками оценивали с помощью t-критерия Стьюдента при $p < 0,05$. Для корреляционного анализа вычисляли коэффициенты корреляции Спирмена (r). Все расчеты выполняли для уровня значимости $\alpha = 0.05$.

3. Результаты

Оценка параметров роста культуры *T. viridis* при естественном освещении проводилась в бассейнах открытого типа, приближённых по конструкции к промышленным системам. Открытые бассейны располагались в теплице для частичного контроля температурного режима и защиты от атмосферных осадков и загрязнений. Микроскопический контроль чистоты культуры подтвердил отсутствие контаминации другими видами микроводорослей или простейшими в течение всего периода культивирования. Выращивание культуры микроводорослей проводилось в весеннее время, при фотопериоде близком к 12 ч (весеннее равноденствие). Суммарная суточная облучённость в области ФАР в это время года составляла от 2 до 4 МДж м$^{-2}$ сут$^{-1}$ (Рис. 1Б).

Эксперимент проводился в накопительном режиме, его продолжительность составила 12 суток. Окончание эксперимента было обусловлено началом стадии отмирания в контрольном варианте. Накопительные кривые по концентрации биомассы в культуре (сухой вес) представлены на Рис. 2А. Поскольку для полупромышленных систем важным параметром является концентрация биомассы и продуктивность относительно площади занимаемой поверхности, дополнительно рассчитывали концентрацию биомассы на площадь поверхности фотобиореактора (Рис. 2Б).

В контрольном варианте без дополнительного внесения CO_2 стадия линейного роста культуры *T. viridis* по биомассе наблюдалась с 4-х по 6-е сутки. Максимальная среднесуточная продуктивность по биомассе (P_m) составила 0.065 г л$^{-1}$ сут$^{-1}$ или 6.5 г м$^{-2}$ сут$^{-1}$. После 8-х суток наступала стационарная стадия, а к 12-м суткам начиналась стадия отмирания. Максимальная удельная скорость роста по биомассе (μ_B) была отмечена на 1-е сутки культивирования (0.72 сут$^{-1}$), а к 8-м суткам снижалась до 0.01 сут$^{-1}$ и в дальнейшем была близкой к нулю или отрицательной (Рис. 2В). Максимальная биомасса достигала 0.525 г л$^{-1}$ (или 52.5 г м$^{-2}$ в расчёте на площадь поверхности), что соответствовало общему урожаю 43.5 г м$^{-2}$ биомассы за всё время культивирования. Стоит отметить, что после 8-х суток накопления биомассы не происходило. Стоит отметить, что при отсутствии внесения CO_2 уровень pH в течение накопительного культивирования *T. viridis* возрастал. После 3-х суток эксперимента уровень pH в конце светового дня достигал значения 10.5–10.8, а в течение ночи снижался до 9.7–10 (Рис. 1 В).

В варианте с дополнительным внесением CO_2 в 1-е сутки эксперимента наблюдалась лаг-фаза, во время которой происходила адаптация культуры к повышенному содержанию углерода. До окончания эксперимента рост культуры был линейным, причём можно было выделить два участка линейного роста: с 3-х по 8-е сутки, со среднесуточной продуктивностью 0.095 г л$^{-1}$ сут$^{-1}$ (9.5 г м$^{-2}$ сут$^{-1}$) и с 9 по 12 сутки, со среднесуточной продуктивностью 0.088 г л$^{-1}$ сут$^{-1}$ (8.8 г м$^{-2}$ сут$^{-1}$). В среднем, продуктивность *T. viridis* при внесении CO_2 была в 1.4 раза выше, чем в контрольном варианте опыта. Максимальная удельная скорость роста по биомассе (μ_B) 0.43 сут$^{-1}$ наблюдалась на 2-е сутки эксперимента, после чего экспоненциально снижалась до 0.06 сут$^{-1}$ на 11 сутки.

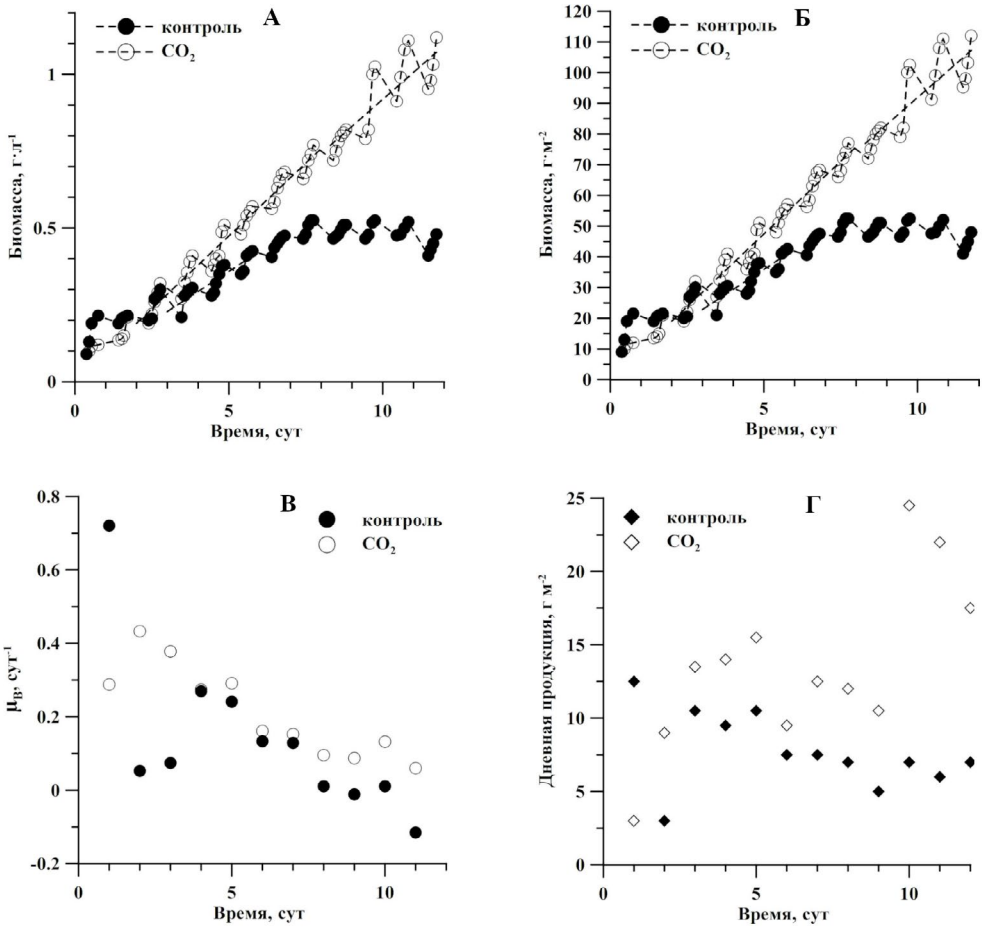


Рис.2. Динамика концентрации биомассы относительно объема (А) и площади поверхности (Б), удельной скорости роста (В) и дневной продукции (Г) при накопительном культивировании *T. viridis* при естественном освещении с различным углеродным обеспечением. CO_2 – вариант с дополнительным внесением углекислого газа.

Максимальная биомасса при дополнительном обеспечении углеродом составила 1.12 г $л^{-1}$ (112 г $м^{-2}$ в расчёте на площадь поверхности). Таким образом, за всё время культивирования общий урожай составил 103 г $м^{-2}$, что в 2.4 раза превысило общий урожай в варианте без дополнительного снабжения неорганическим углеродом.

Помимо определения плотности культуры по биомассе, оценивали динамику численности клеток в культуре (Рис. 3А) и соотношение биомассы к численности (*B/N*), опосредованно отражающее средний размер клеток (Рис. 3Б). Линейный рост численности клеток *T. viridis* в контрольном варианте происходил с 4-х по 6-е сутки, аналогично линейной стадии роста по биомассе. Максимальная численность клеток в контрольном варианте составила 12.27×10^6 клеток $мл^{-1}$. Удельная скорость роста по численности клеток (μ_N) при этом была отмечена в первые сутки эксперимента (0.74 $сут^{-1}$), после чего резко снижалась, после 7-х суток становясь нулевой либо отрицательной. Наряду с этим после 7-х суток отмечено возрастание соотношения *B/N* от 36.6 до 50.5 пг $кл^{-1}$, что свидетельствует об укрупнении клеток в культуре.

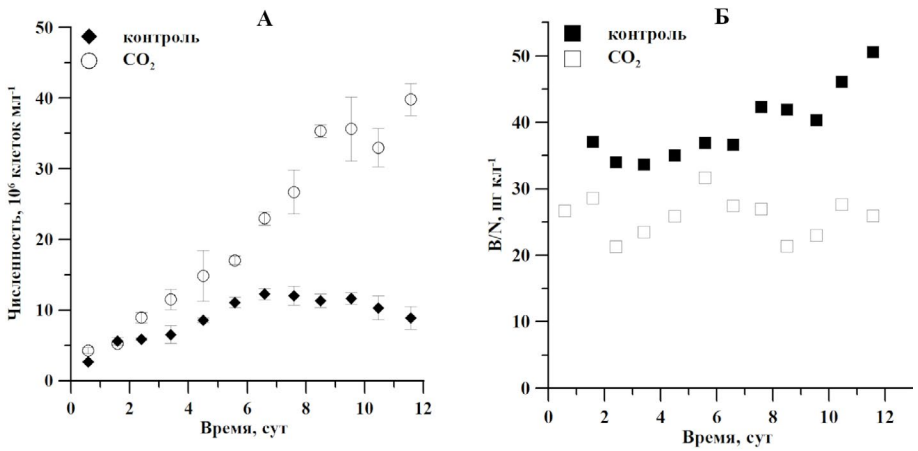


Рис.3. Динамика численности клеток (А) и соотношения биомассы к численности клеток (*B/N*) (Б) при накопительном культивировании *T. viridis* при естественном освещении с различным углеродным обеспечением. CO_2 – вариант с дополнительным внесением углекислого газа.

При внесении CO_2 рост численности клеток микроводорослей был более активным, чем в контроле. Максимальная численность составила 39.8 $\times$ 10^6 клеток·мл$^{-1}$, что было выше, чем в контрольном варианте в 3.2 раза. Максимальная удельная скорость роста (μ_N) 0.53 сут$^{-1}$ была отмечена на 2-е сутки эксперимента, аналогично скорости роста по биомассе. Соотношение биомассы к численности *B/N* оставалось более стабильным, чем в контроле, составляя от 24 до 31 пг кл$^{-1}$. Также, в период активного роста соотношение *B/N* при внесении CO_2 было в среднем в 1.4 раза ниже, чем в контроле.

На основании динамики плотности культуры в течение суток вычисляли дневную продукцию (Рис. 2Г) и ночную потерю биомассы в культуре *T. viridis*. В контрольном варианте дневная продукция на линейной стадии роста (4-е – 6-е сутки) была 10.2 г м$^{-2}$, а в среднем за период накопительного культивирования составила 7.75 г м$^{-2}$. При дополнительном внесении CO_2 дневная продукция была значительно выше (14.6 г м$^{-2}$). При дополнительном углеродном обеспечении наблюдалась положительная корреляция дневной продукции и суммарной суточной облучённости ($r = 0.42$), в то время как в контрольном варианте такой корреляции не было обнаружено. В обоих вариантах опыта накопление биомассы в культуре продолжалось на протяжении всего светового дня, а наибольший почасовый прирост биомассы наблюдался в середине светового дня (12:00 – 14:00).

Ночная потеря биомассы (от биомассы в конце светового дня, NBL_B) в контроле в среднем составила 12.5% от биомассы, а при внесении CO_2 была ниже, составляя в среднем 9.5% от биомассы (Рис. 4А). При этом для обоих вариантов опыта наибольшие значения NBL_B отмечены в начале накопительного культивирования и к окончанию эксперимента, в то время как минимальные значения NBL_B наблюдались на 5-е – 8-е сутки эксперимента. Для варианта с внесением CO_2 выявлена достоверная корреляция NBL_B и дневной продукции ($r = 0.55$), в то время как для контрольного варианта корреляция была положительной, но не достоверной ($r = 0.23$).

Ночная потеря биомассы как доля от продукции (NBL_P) до 7-х суток была в пределах от 20 до 40% от дневной продукции, после чего значительно возрастала, и в варианте без дополнительного углеродного обеспечения NBL_B могла достигать 100% и даже превышать дневную продукцию (Рис. 4Б).

Для оценки эффективности утилизации солнечной энергии культурой *T. viridis* был выполнен расчёт КПД фотосинтеза. В обоих вариантах опыта выявлена отрицательная корреляция КПД от суммарной облучённости, $r = -0.79$ и $r = -0.41$ в контроле и с внесением CO_2, соответственно. То есть при повышении интенсивности инсоляции снижалась эффективность её конверсии в биомассу (Рис. 5). Поскольку при внесении CO_2 в культуру дневная продукция и скорость роста в 1-е сутки были атипично низкими и выделялись из общего тренда (Рис. 2В, Рис. 2Г), значение КПД в 1-е сутки (3.2%) было исключено из расчёта зависимости от облучённости.

Внесение CO_2 в культуру способствовало повышению КПД фотосинтеза. В контрольном варианте КПД составлял от 2.7 до 12.8% (в среднем, 7.1%), в то время как при обеспечении CO_2 КПД был выше, составляя 3.2 до 17.7% (в среднем, 12%).

4. Обсуждение

Экспериментальное культивирование *T. viridis* в полупромышленных масштабах позволило как оценить продукционные характеристики этого вида в условиях естественных суточных циклов освещения, так и выявить влияние наличия источника неорганического углерода на рост культуры и накопление биомассы.

При полупромышленном культивировании *T. viridis* в условиях естественного солнечного освещения было продемонстрировано, что снабжение культуры микроводорослей углеродом путем подачи CO_2 в среду приводило к значительному повышению продукционных характеристик. Так, максимальная среднесуточная продуктивность на линейной стадии роста P_m возрастала в 1.46 раза и достигала 9.5 г м$^{-2}$ сут$^{-1}$, а дневная продукция увеличивалась в 1.9 раза, достигая 14.6 г м$^{-2}$. Также, в контрольном варианте без дополнительного углеродного обеспечения накопительный рост культуры

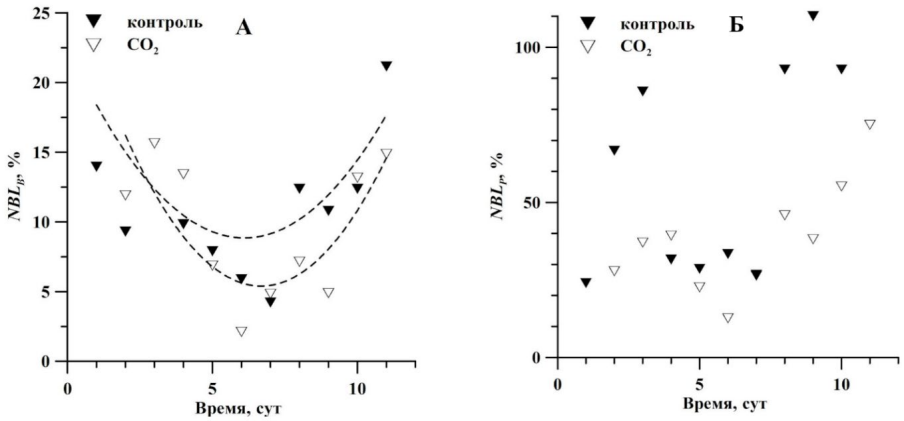


Рис.4. Ночная потеря биомассы как доля от биомассы (А) и как доля от дневной продукции (Б) в культуре *T. viridis* при естественном освещении с различным углеродным обеспечением. Прерывистая линия – линия тренда. CO_2 – вариант с дополнительным внесением углекислого газа.

микроводорослей продолжался 8 суток, после чего прекращался, по-видимому, из-за лимитирования по углероду. Благодаря более длительному периоду роста и большей продуктивности максимальная плотность культуры при снабжении CO_2 достигла 1.12 г $л^{-1}$, а общий урожай биомассы за время культивирования (103 г $м^{-2}$) в 2.4 раза превысил значение для контрольного варианта.

В дополнение к атмосферному воздуху, углеродное обеспечение в культурах микроводорослей может осуществляться в неорганической форме (углекислый газ или бикарбонат натрия) или в форме органических веществ (Agbebi et al., 2022). Снабжение источником неорганического углерода в виде CO_2 в плотных культурах микроводорослей не только повышает концентрацию неорганического углерода в среде, но и способствует поддержанию оптимальной pH среды (Moheimani, 2013a). В плотных культурах микроводорослей и цианобактерий потребление CO_2 в процессе фотосинтеза приводит к увеличению уровня pH, что в свою очередь сдвигает равновесие в карбонатной системе в сторону карбонатов (CO_3^{2-}), формы углерода, недоступной для клеток водорослей (Shiraiwa et al., 1993). Также, для потребления гидрокарбонатов клетками требуется дополнительный расход энергии для работы карбоангидраз (Moheimani, 2013a). В данном исследовании было отмечено, что уровень pH при отсутствии внесения CO_2 возрастал как в течение накопительного культивирования, так и в течение светового дня. В ночной период pH снижался за счет темнового дыхания и выделения CO_2 в среду клетками микроводорослей. Сходный тренд суточной динамики pH наблюдался в культурах *Tetraselmis suecica* и *Chlorella* sp. (Moheimani, 2013a). Вероятно, именно повышение pH выше оптимального уровня лимитировало потребление углерода и значительно ограничило общий урожай биомассы в контрольном варианте в текущем исследовании. Дополнительным фактором, отрицательно влияющим на рост водорослей при повышенном уровне pH является возможное выпадение в осадок солей кальция, магния, фосфора и микроэлементов. Способность к росту при pH >10 у промышленно значимых видов микроводорослей, таких как *Chlorella*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Tetraselmis*, и цианобактерий (*Limnospira*) может объясняться как меньшей потребностью в микроэлементах, так и выделением в среду хелатирующих соединений, препятствующих осаждению микроэлементов (Goldman et al., 1982; Thomas et al., 2026). Тем не менее, повышение уровня pH может способствовать накоплению липидов за счёт изменения метаболизма клеток, ускорять поглощение CO_2 из атмосферного воздуха, а также препятствовать контаминации культуры бактериями и простейшими (Shiraiwa et al., 1993; Thomas et al., 2026).

Поскольку система культивирования была приближена к открытым бассейнам, использующимся при промышленном выращивании микроводорослей, для приготовления среды и для компенсации испарения использовалась водопроводная вода. Согласно нормативам, в водопроводной питьевой воде могут содержаться гидрокарбонаты в концентрации до 400 мг $л^{-1}$. Согласно отчету (https://sevvodokanal.org.ru/pages/kachestvo) жесткость воды составляла 3.7 ± 0.6 °Ж, что примерно соответствует концентрации гидрокарбонатов 226 мг $л^{-1}$. В исследованиях роста микроводорослей обычно используются концентрации гидрокарбонатов от 0.2 до 5 г $л^{-1}$ и выше, а концентрации ниже 0.5 г $л^{-1}$ не оказывают достоверного влияния на скорость роста (Borovkov et al., 2026). Таким образом, концентрация гидрокарбонатов в водопроводной воде не была достаточно высокой для оказания влияния на углеродное обеспечение культуры микроводорослей.

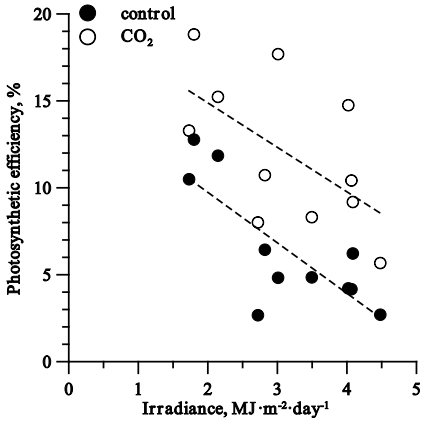


Рис.5. Зависимость КПД фотосинтеза в культуре *T. viridis* от суммарной суточной облучённости при естественном освещении с различным углеродным обеспечением. Прерывистые линии – линейные аппроксимации. CO_2 – вариант с дополнительным внесением углекислого газа.

В более ранних исследованиях роста *T. viridis* в открытых бассейнах приводятся значения среднесуточной продуктивности от 4.2 до 14.4 г $м^{-2}$ $сут^{-1}$ (Жондарева и Тренкеншу, 2019; Gorbunova and Avsiyan, 2022). Однако, более высокие значения максимальной продуктивности при этом наблюдались в летнее время, при большей солнечной облучённости. Также, линейная стадия была непродолжительной, и максимальная биомасса составила 49 г $м^{-2}$, что сопоставимо с максимальной биомассой в контрольном варианте и значительно ниже максимальной биомассы, достигнутой при добавлении CO_2.

Также, продукционные характеристики *T. viridis* в текущем исследовании сходны с продуктивностью других видов рода *Tetraselmis* в условиях естественного освещения. В открытых бассейнах типа рэйсвей продуктивность *Tetraselmis suecica* составляла 48-92 мг $л^{-1}$ $сут^{-1}$, что при глубине рабочего слоя 20 см соответствовало продуктивности на единицу площади от 9.6 до 18.4 г $м^{-2}$ $сут^{-1}$ (Cuello et al., 2015). *Tetraselmis* sp. при выращивании в бассейнах типа рэйсвей в осеннее время в Австралии демонстрировал продуктивность 36 мг $л^{-1}$ $сут^{-1}$ (или 7.2 г $м^{-2}$ $сут^{-1}$) без добавления CO_2, что очень сходно с показателями, полученными нами в контрольном варианте без дополнительного углеродного обеспечения (Raes et al., 2014). Продуктивность *T. suecica* в фотобиореакторах мешочного типа в Австралии составляла около 110 мг $л^{-1}$ $сут^{-1}$ (Moheimani,

2013b). Chini Zitelli et al. (2006) сообщалось, что продуктивность культуры *T. suecica* при выращивании в Италии августе достигала 36-38 г $м^{-2}$ $сут^{-1}$. Но этот показатель был достигнут при культивировании в вертикальных трубчатых фотобиореакторах при большем уровне освещённости.

Продуктивность культур микроводорослей при естественном освещении определяется как условиями минерального и углеродного обеспечения, так и климатическими факторами места культивирования. Наиболее важным фактором среды является облучённость культуры в области фотосинтетически активной радиации. Настоящее исследование роста *T. viridis* проводилось в весеннее время в условиях средних широт, и средняя суточная облучённость в области ФАР составляла 3 МДж $м^{-2}$ $сут^{-1}$. Положительная корреляция дневной продукции и суточной облучённости при добавлении CO_2 позволяет предположить, что дополнительное углеродное обеспечение при более высокой облучённости будет способствовать достижению больших продукционных показателей для этого вида микроводорослей.

При дополнительном внесении источника углерода в культуре *T. viridis* возрастала численность клеток, скорость деления и был отмечен более низкий показатель соотношения *B/N*, свидетельствующий о меньшем среднем размере клеток. Снижение скорости деления и укрупнение клеток в контрольном варианте могут быть обусловлены неблагоприятными условиями, ограничивающими деление клеток, из-за недостатка углеродного субстрата, а также высокого уровня pH.

Рост культуры *T. viridis* наблюдался в течение всего светового дня, однако даже в условиях максимальной продуктивности ночная потеря биомассы составляла от 20 до 40% от дневной продукции. Учитывая это, целесообразно проводить сбор урожая в вечернее время для снижения потерь.

Ночная потеря биомассы в культурах микроводорослей зачастую возрастает при увеличении скорости роста за счёт увеличения дыхания роста. Например, была показана линейная зависимость между суточным урожаем (продуктивностью) и ночной потерей биомассы для культуры *Tetraselmis suecica* (Michels et al., 2014). Однако в данном исследовании было показано, что для *T. viridis* внесение источника углерода как повышало дневную и среднесуточную продукцию, так и приводило к снижению ночной потери биомассы. Для *Limnospira platensis* сходным образом было показано, что при снижении концентрации источника неорганического углерода (в форме бикарбоната натрия) происходило увеличение ночной потери биомассы (Авсиян и Геворгиз, 2025). Вероятно, лимитирование роста культуры по углероду требует дополнительных энергетических затрат, в частности, для работы CO_2-концентрирующих механизмов.

При внесении CO_2 повышалась эффективность утилизации солнечной энергии культурой микроводорослей, КПД конверсии в биомассу составил до 17% (12% в среднем), что является достаточно высоким значением. Для сравнения, рост культуры *Tetraselmis suecica* в трубчатых фотобиореакторах позволял достигать КПД 9.4% (Chini Zittelli et al., 2006).

В целом, в результате исследования был достигнут устойчивый рост культуры *T. viridis* в открытых бассейнах в весеннее время в условиях климата средних широт. Установлено влияние углеродного обеспечения в виде подачи CO_2 на продукционные характеристики микроводоросли при естественном солнечном освещении, что позволяет повысить производительность систем культивирования, а также открывает перспективы одновременной секвестрации углекислого газа и продукции биомассы для аквакультуры, биотоплива и других биотехнологических применений. Предметом дальнейших исследований может быть оценка влияния углеродного обеспечения на продуктивность *T. viridis* по отдельным компонентам биомассы, таким как липиды и пигменты, а также проведение техно-экономического анализа, сопоставляющего дополнительные операционные затраты и стоимость биомассы для крупномасштабных систем культивирования.

5. Выводы

Исследование роста *T. viridis* при полупромышленном культивировании в условиях климата средних широт показало, что дополнительное углеродное обеспечение способствует увеличению продуктивности и максимальной биомассы и обеспечивает повышение эффективности утилизации солнечной энергии. Для дальнейшей оптимизации функционирования биотехнологических производств по выращиванию *T. viridis* необходимо проведение более подробного техно-экономического анализа, учитывающего затраты как на углекислый газ, так и на капитальные расходы на конкретную систему внесения CO_2 в культуру микроводорослей.

Благодарности

Работа выполнена в рамках государственного задания ФИЦ ИнБЮМ по теме «Комплексное исследование механизмов функционирования морских биотехнологических комплексов с целью получения биологически активных веществ из гидробионтов» (№ гос. регистрации 124022400152-1).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

Авсиян А.Л., Геворгиз Р.Г. 2025. Влияние углеродного и светового обеспечения на продуктивность и ночную потерю биомассы *Limnospira (Spirulina) platensis* в условиях естественного освещения. В: Балтийский морской форум: Материалы XIII Международного Балтийского морского форума: в 6 томах. Том 3. Водные биоресурсы, аквакультура и экология водоемов, С. 5–11.

Боровков А.Б., Геворгиз Р.Г. 2005. Продуктивность *Spirulina platensis* и *Tetraselmis viridis* при использовании различных методов культивирования. Экология моря 70: 9–13.

Жондарева Я.Д., Тренкеншу Р.П. 2019. Рост *Tetraselmis viridis* (Rouchijajnen) R.E.Norris, Hori & Chihara 1980 в тепличном бассейне при естественном освещении и аэрации воздухом. Вопросы современной альгологии 3 (21): 76–87. DOI: 10.33624/2311-0147-2019-3(21)-76-87

Лелеков А.С., Тренкеншу Р.П. 2007. Простейшие модели роста микроводорослей. 4. Экспоненциальная и линейная фазы роста. Экология моря 74: 47–49.

Тренкеншу Р.П., Терсков И.А., Сидько Ф.Я. 1981. Плотные культуры морских микроводорослей. Известия СО АН СССР. Серия Биологическая 15(3): 75–82.

Agbebi T.V., Ojo E.O., Watson I.A. 2022. Towards optimal inorganic carbon delivery to microalgae culture. Algal Research 67:102841. DOI: 10.1016/j.algal.2022.102841

Borovkov A.B., Rylkova O.A., Gudvilovich I.N. et al. 2026. Growth and morphometric characteristics of the microalga *Porphyridium purpureum* (Bory) Ross using sodium bicarbonate as a carbon source. Bioresource Technology Reports 33:102615. DOI: 10.1016/j.biteb.2026.102615

Chini Zittelli C., Rodolfi L., Biondi N. et al. 2006. Productivity and photosynthetic efficiency of outdoor cultures of *Tetraselmis suecica* in annular columns. Aquaculture 261(3): 932–943. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2006.08.011

Cuello M.C., Cosgrove J.J., Randhir A. et al. 2015. Comparison of continuous and day time only mixing on *Tetraselmis suecica* (Chlorophyta) in outdoor raceway ponds. Journal of applied phycology 27(5): 1783-1791. DOI: 10.1007/s10811-014-0420-5

Edmundson S.J., Huesemann M.H. 2015. The dark side of algae cultivation: Characterizing night biomass loss in three photosynthetic algae, *Chlorella sorokiniana*, *Nannochloropsis salina* and *Picochlorum* sp. Algal research 12: 470–476. DOI: 10.1016/j.algal.2015.10.012

Goldman J.C., Azov Y., Riley C.B. et al. 1982. The effect of pH in intensive microalgal cultures. I. Biomass regulation. Journal of experimental marine biology and ecology 57(1): 1–13. DOI: 10.1016/0022-0981(82)90140-X

Gorbunova S.Y., Avsiyan A.L. 2022. Diurnal dynamics of green microalga *Tetraselmis viridis* culture density in open pond monitored by optical density sensor. Bioresource Technology Reports 20: 101251. DOI: 10.1016/j.biteb.2022.101251

Harrison P.J., Waters R.E., Taylor F.J.R. 1980. A broad spectrum artificial seawater medium for coastal and open ocean phytoplankton. Journal of Phycology 16: 28–35. DOI: 10.1111/j.0022-3646.1980.00028.x

Holdmann C., Schmid-Staiger U., Hirth T. 2019. Outdoor microalgae cultivation at different biomass concentrations—assessment of different daily and seasonal light scenarios by modeling. Algal Research 38: 101405. DOI: 10.1016/j.algal.2018.101405

Isdepsky A., Borowitzka M.A. 2019. In-pond strain selection of euryhaline *Tetraselmis* sp. strains for reliable long-term outdoor culture as potential sources of biofuel and other products. Journal of Applied Phycology 31(6): 3359–3370. DOI: 10.1007/s10811-019-01873-y

López-Hernández J.F., Kean-Meng T., Asencio-Alcudia G.G. et al. 2022. Sustainable microalgae and cyanobacteria biotechnology. Applied Sciences 12(14): 6887. DOI: 10.3390/app12146887

Mehariya S., Annamalai S.N., Thaher M.I. et al. 2024. A comprehensive review on versatile microalga *Tetraselmis*: Potentials applications in wastewater remediation and bulk chemical production. Journal of Environmental Management 365: 121520. DOI: 10.1016/j.jenvman.2024.121520

Michels M.H.A., Slegers P.M., Vermuë M.H. et al. 2014. Effect of biomass concentration on the productivity of *Tetraselmis suecica* in a pilot–scale tubular photobioreactor using natural sunlight. Algal Research 4: 12–18. DOI: 10.1016/j.algal.2013.11.011

Moheimani N.R. 2013. Inorganic carbon and pH effect on growth and lipid productivity of *Tetraselmis suecica* and *Chlorella* sp (Chlorophyta) grown outdoors in bag photobioreactors. Journal of applied phycology 25(2): 387–398. DOI: 10.1007/s10811-012-9873-6

Moheimani N.R. 2013. Long-term outdoor growth and lipid productivity of *Tetraselmis suecica*, *Dunaliella tertiolecta* and *Chlorella* sp (Chlorophyta) in bag photobioreactors. Journal of Applied Phycology 25(1): 167–176. DOI: 10.1007/s10811-012-9850-0

Novoveská L., Nielsen S.L., Eroldoğan O.T. et al. 2023. Overview and challenges of large-scale cultivation of photosynthetic microalgae and cyanobacteria. Marine drugs 21(8): 445. DOI: 10.3390/md21080445

Paterson S., Gómez-Cortés P., de la Fuente M.A. et al. 2023. Bioactivity and digestibility of microalgae *Tetraselmis* sp. and *Nannochloropsis* sp. as basis of their potential as novel functional foods. Nutrients 15(2): 477. DOI: 10.3390/nu15020477

Qiang H., Guterman H., Richmond A. 1996. Physiological characteristics of *Spirulina platensis* (Cyanobacteria) cultured at ultrahigh cell densities. Journal of Phycology 32(6): 1066–1073. DOI: 10.1111/j.0022-3646.1996.01066.x

Raes E.J., Isdepsky A., Muylaert K. et al. 2014. Comparison of growth of *Tetraselmis* in a tubular photobioreactor (Biocoil) and a raceway pond. Journal of Applied Phycology 26(1): 247–255. DOI: 10.1007/s10811-013-0077-5

Sarker N.K., Kaparaju P. 2023. A critical review on the status and progress of microalgae cultivation in outdoor photobioreactors conducted over 35 years (1986–2021). Energies 16(7): 3105. DOI: 10.3390/en16073105

Sarmah M., Panda M.R. 2026. Systematic review on proliferation of microalgae and carbon sequestration potential for sustainability. World Journal of Microbiology and Biotechnology 42(3): 100. DOI: 10.1007/s11274-026-04849-6

Shiraiwa Y., Goyal A., Tolbert N.E. 1993. Alkalization of the medium by unicellular green algae during uptake dissolved inorganic carbon. Plant and cell physiology 34(5): 649–657. DOI: 10.1093/oxfordjournals.pcp.a078467

Thomas P.K., Gerlach R., Narwani A. 2026. Hunting for Extremophiles: A Systematic Screening of Freshwater Microalgae for Tolerance to High-pH and High-Alkalinity Cultivation. ACS Sustainable Chemistry & Engineering 14(9): 4376–4386. DOI: 10.1021/acssuschemeng.5c09906

Tulli F., Chini Zittelli G., Giorgi G. et al. 2012. Effect of the inclusion of dried *Tetraselmis suecica* on growth, feed utilization, and fillet composition of European sea bass juveniles fed organic diets. Journal of aquatic food product technology 21(3): 188–197. DOI: 10.1080/10498850.2012.664803

Zheng Q., Xu X., Martin G.J. et al. 2018. Critical review of strategies for CO_2 delivery to large-scale microalgae cultures. Chinese journal of chemical engineering 26(11): 2219–2228. DOI: 10.1016/j.cjche.2018.07.013

Zhu C., Hu C., Wang J. et al. 2023. A precise microalgae farming for CO_2 sequestration: a critical review and perspectives. Science of the Total Environment 901: 166013. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2023.166013

NASA Langley Research Center (LaRC) POWER Project. 2026. URL: https://power.larc.nasa.gov/data-access-viewer/ Дата посещения: 28 мая 2026.

Original Article

Ultrastructural characterization of lipid droplet biogenesis and microlipophagy in the pennate diatom *Encyonema silesiacum*

Bedoshvili Ye.D.*, Orlova A.A., Zakharova Yu.R.

Limnological Institute Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Ulan-batorskaya Str., 3, Irkutsk, 664033, Russia

ABSTRACT. Lipid droplets of diatoms are dynamic organelles essential for energy and lipid metabolism within the cell; however, their intracellular life cycle remains largely unexplored at the ultrastructural level. In this study, we investigated the dynamics of lipid droplets in the pennate diatom, *Encyonema silesiacum*, using fluorescence and transmission electron microscopy. The size and number of lipid droplets were assessed using BDP 505/515 staining. After five days of cultivation, lipid droplets had a diameter of 0.6 ± 0.1 μm, while with an increase in the cultivation time to 25 days, the diameter decreased to 0.8 ± 0.2 μm. In other words, with increasing culture age, the size increased, indicating stress-induced accumulation of TAGs. We suggest that lipid droplets undergo complete vacuolar engulfment, followed by morphological degradation. Analysis of literature data suggests that complete lipid droplet uptake by vacuoles represents a widespread and conserved microlipophagic pathway in diatoms. These results contribute to our understanding of the lipid metabolism diversity in diatoms.

Keywords: *Encyonema silesiacum*, lipid droplets, microlipophagy, vacuole, transmission electron microscopy, diatoms

For citation: Bedoshvili Ye.D., Orlova A.A., Zakharova Yu.R. Ultrastructural characterization of lipid droplet biogenesis and microlipophagy in the pennate diatom *Encyonema silesiacum* // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - P. 523-536. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-523

1. Introduction

Diatoms (phylum Bacillariophyta) are a group of unicellular eukaryotes with the unique ability to synthesize species-specific silica frustules (Round et al., 1990). Currently, the phylum comprises 10 classes (Kociolek et al., 2026) with diverse frustule symmetry. According to the current phylogeny, species with multiradial and polar symmetry belong to six classes (Coretrophycaea, Leptocylindrophyceae, Melosirophycaea, Coscinodiscophyceae, Thalassiosirophyceae, and Biddulphiophyceae), while bilateral symmetry is characteristic of the classes Striatellaphyceae, Plagiogrammaphyceae, Fragilariophyceae, and Bacillariophyceae (Kociolek et al., 2026).

In addition to their morphological uniqueness, diatoms, like other eukaryotic microalgae, are distinguished for their ability to produce triacylglycerols (TAGs), which are stored in lipid droplets (LDs)—specialized organelles (Goold et al., 2015; Maeda et al., 2017). Depending on cultivation conditions, including stress, diatoms synthesize a wide range of saturated and unsaturated fatty acids, which accumulate in LDs. LDs are not inert inclusions but dynamic organelles that play a key role in cellular energy and lipid homeostasis. The size and number of LDs vary widely (from 0.3 to 5.6 μm in diameter) depending on environmental conditions and the phase of lipid accumulation (Maeda et al., 2017; Cvjetinovic et al., 2024).

In most eukaryotes, LD biogenesis is conserved process: neutral lipids accumulate between the membrane leaflets of the endoplasmic reticulum (ER), form lenses, and bud off into the cytosol, where they interact with mitochondria and peroxisomes (Olzmann and Carvalho, 2019). In microalgal cells, unlike the bulk of higher plants, LD function as transient organelles (Zienkiewicz et al., 2016): in response to environmental changes, cells break down TAGs and sterol esters, releasing lipids for membrane synthesis and metabolic energy production.

Lipophagy is one of the key pathways for LD degradation, a process mediated by autophagy. In green algae, lipophagy occurred in vacuoles (Zhao et al., 2014; Schwarz et al., 2017; Kokabi et al., 2020; Zienkiewicz et al., 2020). There are two types of lipophagy: mac-

*Corresponding author. E-mail address: bedoshvili@lin.irk.ru (Ye.D. Bedoshvili)

Received: June 30, 2026;
Accepted after revised: August 15, 2026;
Available online: August 28, 2026

© Author(s) 2026. This work is distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

rolipophagy, which involves the formation of a phagophore and its conversion to an autophagosome, and microlipophagy, in which LD is transferred to the vacuole without the formation of an autophagosome (Garcia et al., 2018). For diatoms, the existence of new, previously unknown microlipophagic pathways is suggested (Nonoyama et al., 2019; Tanaka et al., 2024). Tanaka et al. (2024), based on a *Fistulifera solaris* S. Mayama, M. Matsumoto, K. Nemoto & T. Tanaka model, proteomic analysis, and inhibition of autophagy with chloroquine, demonstrated LD degradation in this diatom via lipophagy. Fluorescence microscopy revealed increased contact between vacuoles and LD under conditions stimulating lipid degradation; this process was suppressed by autophagy inhibitors. Transmission electron microscopy (TEM) demonstrated direct fusion of vacuoles and LD, suggesting the presence of a new type of microlipophagy in *F. solaris*, in which degradation occurs through partial (not complete) fusion of LD into the vacuole (Tanaka et al., 2024).

However, the work by Tanaka et al. (2024) remains one of the few ultrastructural studies of LD degradation in diatoms. Despite growing interest in this group of microalgae, the formation, maturation, and degradation of LD during their intracellular movement remain poorly understood. Given the high morphological diversity of diatoms, we can assume that microlipophagy in different species may have species-specific ultrastructural characteristics. Detailed studies of LD biology in diatoms are necessary to fill the gap in our knowledge of the fundamental features of cellular organization and lipid metabolism in this group.

In this study, we used *Encyonema silesiacum* (Bleisch) D.G. Mann, a freshwater raphe pennate diatom (class Bacillariophyceae), as a model, for which the ultrastructural dynamics of LDs were previously studied. The aim of this study was to characterize the ultrastructural dynamics of LDs in situ using fluorescence microscopy (BDP 505/515 staining) and TEM. Particular attention was paid to the intracellular localization of LDs and their transformation during vacuole immersion.

2. Materials and methods

2.1. Cultivation conditions

Encyonema silesiacum strain Ov460 was isolated from a sample collected from the Yenisei River in 2019. Cells were grown in DM medium (Culture collection…, 1988) at 8°C and 300 μmol m^{-2} s^{-1} illumination with a 12-hour light/12-hour dark cycle. The culture was maintained in 50-mL Erlenmeyer flasks with subcultures every 60 days. Cultures were used for experiments on the 5th and 25th days of culturing. Each time point represented three biological replicates.

2.2. Light and fluorescence microscopy

Living cells from 5- and 25-day-old cultures were stained with the fluorescent dye BDP 505/515 (Lumiprobe, Russia), specific for neutral lipids, to visualize LD. A 5 mM dye solution was added to the cell medium to a final concentration of 2 μM. After 30 minutes of incubation in the dark, the cells were washed twice with phosphate buffer (0.1 M; pH 7.0) and analyzed using an Olympus IX83 microscope (Olympus, Japan) equipped with a U-FBNA fluorescent filter cube (excitation at 470–495 nm; emission at 510–550 nm). Chloroplast autofluorescence was visualized using a U-FGNA fluorescence filter cube (excitation 360–370 nm; emission 420–460 nm). Micrographs were obtained using an Olympus DP74 digital camera and the CellSens 4.1 software package.

2.3. Measurement of lipid droplet sizes and statistical processing

To assess LD size, measurements were taken using fluorescence micrographs. At each time point, at least 30 randomly selected cells from triplicates were analyzed. All visible LDs in each cell were measured. To compare LD sizes between 5- and 25-day-old cultures, the nonparametric Mann–Whitney U test was used. Differences were considered statistically significant at $p < 0.05$.

2.4. Transmission electron microscopy (TEM)

Cells from a 25-day culture were fixed for three hours in a 2.5% glutaraldehyde solution (Sigma-Aldrich, USA) in phosphate buffer (0.1 M; pH 7.0). After washing in the same buffer (three times for 15 minutes), the samples were further fixed in a 1% osmium tetroxide solution in phosphate buffer for 12 hours at 4°C. Dehydration in a series of increasing ethanol concentrations (30, 50, 70, 80, 96, and 100%) and acetone, as well as embedding in Araldite 502 Kit epoxy resin (SPI, USA), were performed according to the standard protocol (Bedoshvili and Likhoshway, 2012).

Ultrathin sections (60–70 nm thick) were prepared on an Ultracut R ultramicrotome (Leica, Germany) using an ULTRA 35 diamond knife (Diatom, Switzerland). The sections were placed on copper grids and contrasted with a saturated aqueous solution of uranyl acetate (30 min) and Reynolds' lead citrate (10 min). The preparations were analyzed on a Leo 906 E transmission electron microscope (Zeiss, Germany) at an accelerating voltage of 80 kV. Micrographs were obtained using a MegaView II digital camera (Zeiss, Germany).

Sections of 50 different cells were examined. Only transverse sections passing through the central part of the cell were used for analysis, as well as longitudinal and oblique sections, which allow for the unambiguous identification of the main organelles.

3. Results

E. silesiacum cells were 14.5 ± 1.6 μm long and 5.4 ± 0.3 μm wide. Each cell contained a single chloroplast, pressed to the narrower part of the cell with lobes on the facial parts of both valves (Fig. 1). Analysis of cells in culture of different ages, stained with BDP

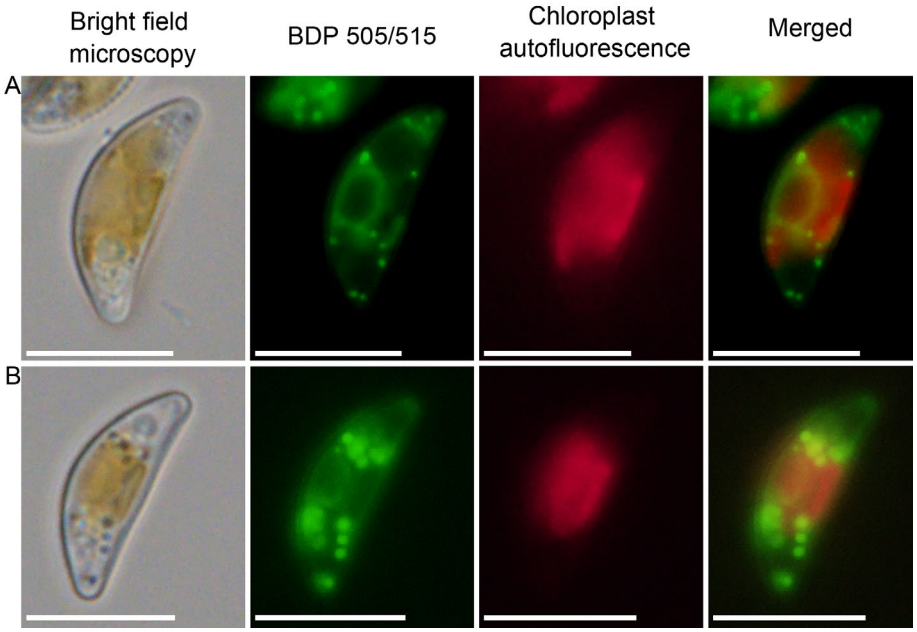


Fig.1. Staining of lipid droplets in living *Encyonema silesiacum* cells using BDP 505/515 (light and fluorescence microscopy). A–cells in a 5-day culture; B–cells in a 25-day culture. Scale bar–10 μm.

505/515, revealed LD in the cytoplasm, 0.6 ± 0.1 μm in diameter for a 5-day culture and 0.8 ± 0.2 μm in diameter for a 25-day culture (Figs. 1, 2). Overall, 81 droplets were analyzed for a 5-day culture and 192 droplets for a 25-day culture. A statistically significant increase in the diameter of LDs was found in the 25-day culture compared to the 5-day culture (medians were 0.794 μm and 0.604 μm, respectively; $U = 2757$; $p < 0.05$). The number of droplets per cell tended to increase. The 5-day culture was characterized by 6 ± 2 LDs per cell (in this case, cells with visible stained LDs were included), while the 25-day culture was characterized by 8 ± 4 droplets per cell. These values for the number of LDs per cell are qualitative in nature and reflect the observed range of heterogeneity in the culture.

According to TEM data, the cell ultrastructure of the studied strain was consistent with previous data on this species (Fig. 3; Bedoshvili et al., 2018). Two large vacuoles were clearly visible in longitudinal sections (Fig. 3B). TEM revealed various variants of LDs arrangement in the cytoplasm (Fig. 4). In sections, LDs appeared as rounded bodies with homogeneous contents of varying electron density. LDs were

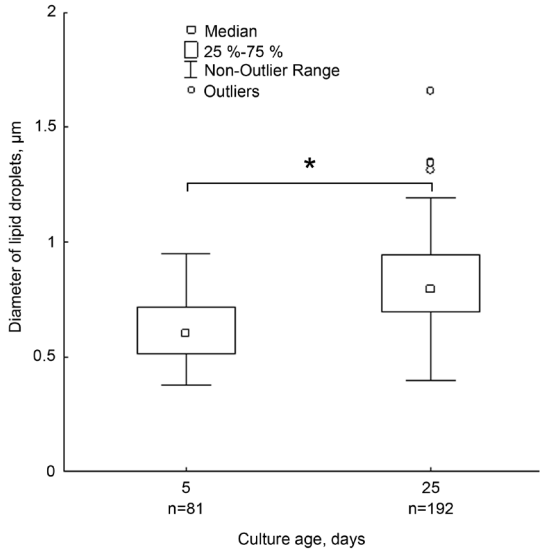


Fig.2. Box plot showing the diameter of lipid droplets in *Encyonema silesiacum* cultures of different ages. The diameter of lipid droplets increased significantly with culturing time ($p < 0.05$, Mann-Whitney test). The statistical significance of the differences between the 5- and 25-day groups is indicated by an asterisk (*) above the connecting line.

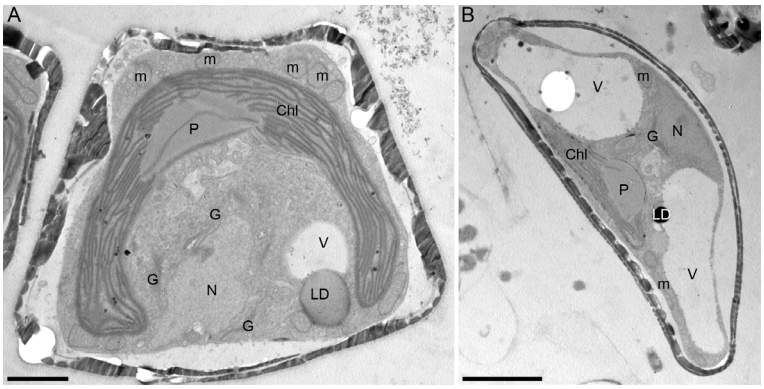


Fig.3. Ultrastructure of *Encyonema silesiacum* cells from the 25-day-old culture (TEM). A–cross-section of a cell; B–longitudinal section of a cell. Legend: Chl–chloroplast; G–Golgi apparatus; LD–lipid droplet; m–mitochondrion; P–pyrenoid; V–vacuole. Scale: A–1 μm; B–2 μm.

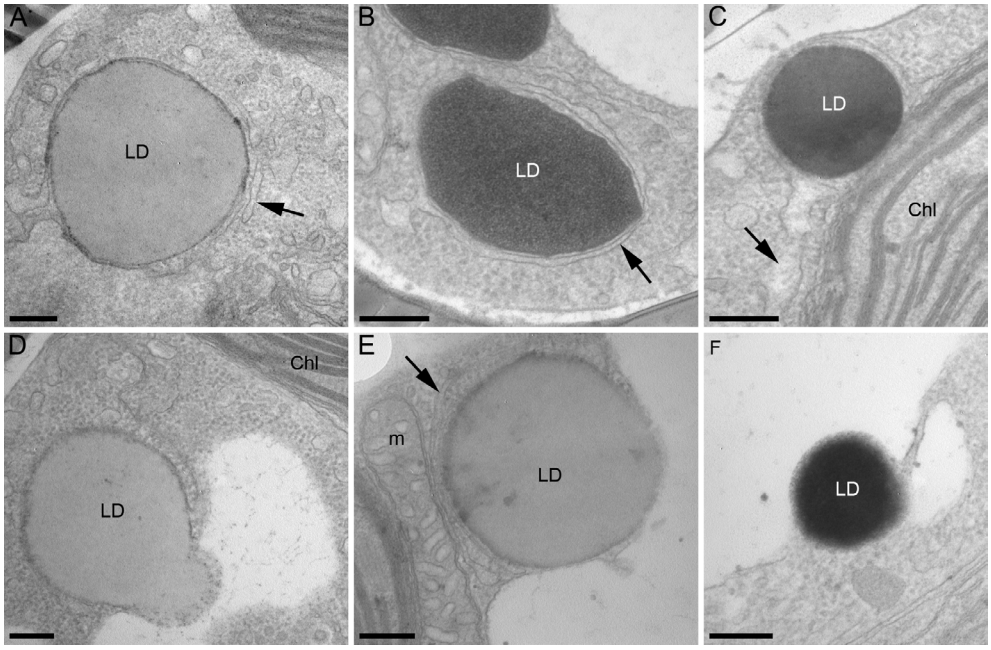


Fig.4. Ultrastructure of lipid droplets from the 25-day-old culture of *Encyonema silesiacum* in the cytoplasm (TEM). A-C–sections of lipid droplets completely localized in the cytoplasm; D-F–lipid droplets partially located in the cytoplasm. Black arrows indicate ER cisterns. Legend: Chl–chloroplast; LD–lipid droplet; m–mitochondrion. Scale bar–200 nm.

located either entirely in the cytoplasm (Fig. 4A-C) or could be partially immersed in a vacuole (Fig. 4D-F). In both cases, LDs could be associated with the ER cistern (Fig. 4A, E).

LDs were also found to be localized in vacuoles, with changes in their morphology observed—cavities of varying density appeared within them (Fig. 5). The density of most of these structures prevented the epoxy resin from effectively penetrating them, resulting in large holes visible in sections of lipid droplets in vacuoles (Fig. 5A, B, D). Such residual lipid droplets in vacuoles could occupy a bulk of the vacuole (Fig. 5B). Figure 5 shows LDs at an early stage (Fig. 5C) and a later stage (Fig. 5D) of morphological changes in the vacuole. In addition to degrading LDs, there were also membrane remnants of unknown origin in the vacuoles.

4. Discussion

BDP 505/515 staining enabled the detection of LDs in *E. silesiacum* cells and the quantification of their diameter in cultures of different ages. An increase in LD size during long-term cultivation was reported for many microalgae species (Goold et al., 2015) and

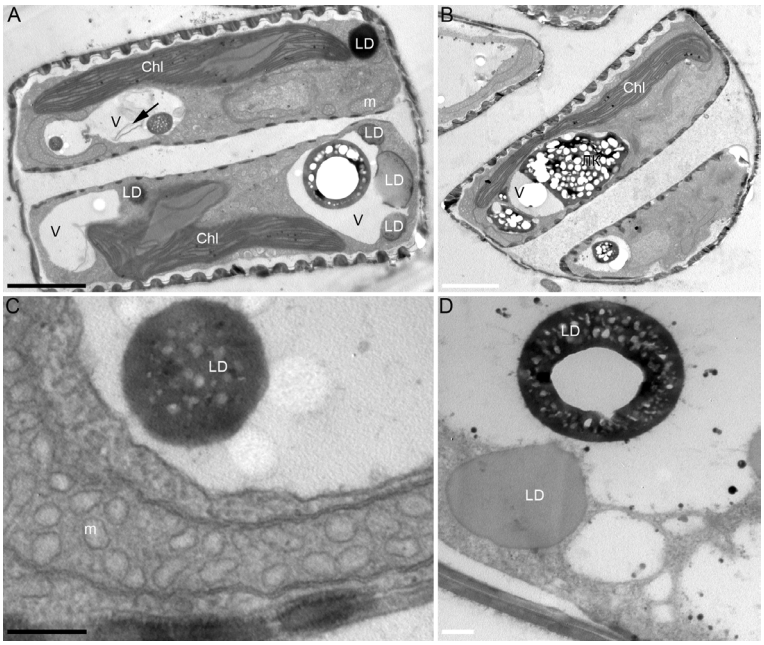


Fig.5. Ultrastructure of lipid droplets from the 25-day-old culture of the *Encyonema silesiacum* vacuoles (TEM). A–oblique section of cells undergoing valve formation after division, all possible types of lipid droplet localization in the studied species are represented in the cell, the black arrow indicates membranes of unknown origin inside the vacuole; B–oblique section through cells forming valves after division, lipid droplets occupy most of the vacuoles; C–enlarged fragment of Figure 5A, the lipid droplet is at the early stage of morphological change after its transfer to the vacuole; D–lipid droplet at the late stage of morphological change in the vacuole. Legend: Chl–chloroplast; LD–lipid droplet; m–mitochondrion; V–vacuole. Scale: A, B–2 μm; C, D–200 nm.

is considered an adaptive response to the depletion of biogenic elements in the medium. In diatoms, increased LD biogenesis is associated with a deficiency of silicon (Roessler, 1988; Smith et al., 2016), nitrogen (Hu et al., 2008; Levitan et al., 2015; Yang et al., 2013), or phosphorus (Lombardi and Wangersky, 1991; Yang et al., 2014). Although we did not directly measure concentrations of biogenic elements or culture growth curves in our study, we speculate that culturing *E. silesiacum* without medium change for 25 days resulted in the depletion of one or more of these elements, which in turn stimulated TAG accumulation and an increase in LD size. Overall, culturing without medium change can be considered a model for stress-induced TAG accumulation in diatom cells as a result of biogenic element deficiency and, possibly, the accumulation of metabolites in the medium.

The ultrastructure of *E. silesiacum* cells, described in detail previously (Bedoshvili et al., 2018), is typical of pennate diatoms and possesses all the characteristic features: a single lobed chloroplast adjacent to the valve and containing a pyrenoid crossed by a thylakoid lamella; a nucleus surrounded by dictyosomes; and mitochondria with tubular cristae (Round et al., 1990). The cytoplasm of the studied species contains numerous vesicles, prominent ER cisterns, and two large vacuoles occupying a significant portion of the cell volume.

Of particular interest is our observed association of LD with ER cisternae (Fig. 4A, E). This association is consistent with the canonical model of LD biogenesis, which posits that neutral lipids accumulate between the ER membrane leaflets, form lenses, and subsequently bud into the cytosol (Olzmann and Carvalho, 2019; Leyland et al., 2020). The presence of ER-associated LD both in the cytoplasm and in a partially vacuolar position suggests that LD transport to the vacuole may occur simultaneously with ongoing biogenesis of new droplets, which is particularly relevant under stress conditions.

In recent years, data have accumulated on the numerous functions of vacuoles in diatoms. They serve as a storage site for biogenic elements (Kooistra et al., 2007; Behrenfeld et al., 2021), chrysolaminarin (Chiovitti et al., 2004; Huang et al., 2016), and, presumably, can differ in functional specialization within a single cell. Autophagy is the most important function of vacuoles in microalgae, including diatoms (Laude et al., 2024; Nonoyama et al., 2019; Tanaka et al., 2024). Previously, it was reported on the centric diatom, *Cyclotella meneghiniana* Kützing, that exposure to xenobiotics (chlorinated benzenes and chromium) causes the appearance of autophagosome-like structures in vacuoles (Sicko-Goad et al., 1989; Lazinsky and Sicko-Goad, 1990). Autophagic compartments in microalgae are bounded by a single membrane, which identifies them as vacuoles rather than classic autophagosomes.

The obtained data on the localization and morphology of LD in *E. silesiacum* significantly expand our understanding of the mechanisms of lipophagy in diatoms. In contrast to the *F. solaris* model, where only partial fusion of LD with the vacuole was observed, in *E. silesiacum*, complete transfer of LD into the vacuolar compartment with their subsequent morphological transformation was recorded (Figs 4, 5). This allows us to distinguish sequential stages of vacuolar lipophagy in *E. silesiacum*: initiation, when LD is localized in the cytoplasm; invagination, during which LD is localized at the border of the vacuole (to varying degrees of fusion); and complete transfer and degradation, in which LD is located inside the vacuole and shows signs of destruction. Most likely, the altered LD in vacuoles have a different chemical nature than cytoplasmic droplets. Poor impregnation with epoxy resin indicates that in the vacuolar environment, modification of the LD occurs with partial oxidation or hydrolysis of TAGs, which changes their physicochemical properties.

The data presented here provide new insights into the diversity of microlipophagy mechanisms in diatoms. The complete immersion of LD into the vacuole observed in *E. silesiacum* is most likely not a species-specific feature but may represent a more conserved and widespread mechanism among Bacillariophyta. Previously published ultrastructural works, including classical cytological descriptions (Helmcke and Krieger, 1966–Plates 588, 596, 602, etc.) and relatively new studies (Bedoshvili et al., 2009–Fig 4c; Cvjetinovic et al., 2024–Fig 8D, D'), repeatedly depict LD within vacuoles; however, these structures were not interpreted as stages of microlipophagy and did not attract the attention of researchers focused on other aspects of diatom cytology. In this regard, the *F. solaris* model described by Tanaka et al. (2024) is particularly noteworthy, where microlipophagy is limited to partial contact of the LD with the vacuole without complete engulfment, despite changes in vacuole volume. This difference suggests that in *F. solaris*, this degradation pathway is either blocked at the membrane invagination stage or replaced by an alternative mechanism, making this species an exception among studied diatoms rather than a universal rule.

5. Conclusions

Our data were obtained exclusively using static electron microscopy, which captures cells at a specific point in time and provides only "snapshots" of intracellular processes. Observations of lipid droplets localized in the cytoplasm, at the vacuole border, or within the vacuole provide indirect ultrastructural evidence that we can interpret as sequential stages. Confirmation of lipophagy in current studies requires the use of molecular markers (e.g., colocalization of LDs with autophagosome or vacuolar membrane proteins), autophagy inhibitors, or intravital imaging (Tanaka et al., 2024). Nevertheless, the presented data contribute to our understanding of the morphological diversity of lipophagic pathways in diatoms and form the basis for future molecular studies.

Acknowledgements

Microscopy was performed at the Ultramicroanalysis Shared Use Center of the Limnological Institute Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, https://www.lin.irk.ru/copp/.

This study was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, project no. 1023032700153-7-1.6.17 (FVSR-2026-0001) (Limnological Institute Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences).

Conflict of Interest

The authors declare no conflicts of interest.

References

Bedoshvili Y.D., Gneusheva K.V., Popova M.S. et al. 2018. Frustule morphogenesis of raphid pennate diatom *Encyonema ventricosum* (Agardh) Grunow. Protoplasma 255(3): 911–921. DOI: 10.1007/s00709-017-1199-4

Bedoshvili Ye.D., Likhoshway Ye.V. 2012. The cell ultrastructure of diatoms – implications for phylogeny? The transmission electron microscope. In: Maaz K. (Ed.). InTech: Chroatia, pp. 147–160.

Bedoshvili Ye.D., Popkova T.P., Likhoshway Ye.V. 2009. Chloroplast structure of diatoms of different classes. Cell and Tissue Biology 3: 297–310. DOI: 10.1134/S1990519X09030122

Behrenfeld M.J., Halsey K.H., Boss E. et al. 2021. Thoughts on the evolution and ecological niche of diatoms. Ecological Monographs 91: e01457. DOI: 10.1002/ecm.1457

Chiovitti A., Molino P., Crawford S.A. et al. 2004. The glucans extracted with warm water from diatoms are mainly derived from intracellular chrysolaminaran and not extracellular polysaccharides. European Journal of Phycology 39: 117–128. DOI: 10.1080/0967026042000201885

Culture Collection of Algae and Protozoa: Catalogue of Strains. 1988. In: Thompson A.S., Rhodes J.C., Pettman I. (Eds). Ambleside, UK: Freshwater Biological Association.

Cvjetinovic J., Bedoshvili Y.D., Davidovich N.A. et al. 2024. Exploring salinity induced adaptations in marine diatoms using advanced photonic techniques. Scientific Reports 14(1): 32007. DOI: 10.1038/s41598-024-83640-9

Garcia E.J., Vevea J.D., Pon L.A. 2018. Lipid droplet autophagy during energy mobilization, lipid homeostasis and protein quality control. Frontiers in Bioscience 23: 1552.

Goold H., Beisson F., Peltier G. et al. 2015. Microalgal lipid droplets: composition, diversity, biogenesis and functions. Plant Cell Reports 34: 545–555. DOI: 10.1007/s00299-014-1711-7

Helmcke J.G., Krieger W. 1966. Diatomeenschalen im elektronenmikroskopischen Bild. Teil. VI. Electron Microscopy of Diatom Cells. Bearbeitet von R.W. Drum, H.S. Pankratz, E.F. Stoermer. 100 Tafeln (Originalphotos) in Kassette im Textheft. J. Cramer, Lehre. DM 100.

Hu Q., Sommerfeld M., Jarvis E. et al. 2008. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: Perspectives and advances. The Plant Journal 54: 621–639. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2008.03492.x

Huang W., Rio Bartulos C., Kroth P.G. 2016. Diatom vacuolar 1,6-beta-transglycosylases can functionally complement the respective yeast mutants. Journal of Eukaryotic Microbiology 63: 536–546. DOI: 10.1111/jeu.12298

Kociolek J.P., Ashworth M.P., Alverson A.J. 2026. A phylogenetic classification of diatoms (Bacillariophyta). Journal of Phycology 62: 44–67. DOI: 10.1111/jpy.70125

Kokabi K., Gorelova O., Zorin B. et al. 2020. Lipidome remodeling and autophagic respose in the arachidonic-acid-rich microalga *Lobosphaera incisa* under nitrogen and phosphorous deprivation. Frontiers in Plant Science 11: 614846. DOI: 10.3389/fpls.2020.614846

Kooistra W.H.C.F., Gersonde R., Medlin L.K. et al. 2007. The origin and evolution of the diatoms: their adaptation to a planktonic existence. In: Falkowski P., Knoll A.H. (Eds), Evolution of primary producers in the sea. Burlington, MA, USA: Elsevier Inc., pp. 207–249.

Laude J., Scarsini M., Nef C. et al. 2024. Evolutionary conservation and metabolic significance of autophagy in algae. Philosophical Transactions of the Royal Society B 379: 20230368. DOI: 10.1098/rstb.2023.0368

Lazinsky D., Sicko-Goad L. 1990. Morphometric analysis of phosphate and chromium interactions in *Cyclotella meneghiniana*. Aquatic Toxicology 16: 127–140. DOI: 10.1016/0166-445X(90)90082-Z

Levitan O., Dinamarca J., Zelzion E. et al. 2015. Remodeling of intermediate metabolism in the diatom *Phaeodactylum tricornutum* under nitrogen stress. Proceedings of the National Academy of Sciences USA 112: 412–417. DOI: 10.1073/pnas.1419818112

Leyland B., Boussiba S., Khozin-Goldberg I. 2020. A review of diatom lipid droplets. Biology (Basel) 9(2): 38. DOI: 10.3390/biology9020038

Lombardi A.T., Wangersky P.J. 1991. Influence of phosphorus and silicon on lipid class production by the marine diatom *Chaetoceros gracilis* grown in turbidostat cage cultures. Marine Ecology Progress Series 77: 39–47.

Maeda Y., Nojima D., Yoshino T. et al. 2017. Structure and properties of oil bodies in diatoms. Philosophical Transactions of the Royal Society B 372: 20160408. DOI: 10.1098/rstb.2016.0408

Nonoyama T., Nojima D., Maeda Y. et al. 2019. Proteomics analysis of lipid droplets indicates involvement of membrane trafficking proteins in lipid droplet breakdown in the oleaginous diatom *Fistulifera solaris*. Algal Research 44: 11. DOI: 10.1016/j.algal.2019.101660

Olzmann J.A., Carvalho P. 2019. Dynamics and functions of lipid droplets. Nature Reviews Molecular Cell Biology 20(3): 137–155. DOI: 10.1038/s41580-018-0085-z

Roessler P.G. 1988. Effects of silicon deficiency on lipid composition and metabolism in the diatom. Journal of Phycology 24: 394–400. DOI: 10.1111/j.1529-8817.1988.tb04482.x

Round F.E., Crawford R.M., Mann D.G. 1990. The Diatoms. Biology and Morphology of the Genera. Cambridge: Cambridge University Press.

Schwarz V., Andosch A., Geretschläger A. et al. 2017. Carbon starvation induces lipid degradation via autophagy in the model alga micrasterias. Journal of Plant Physiology 208: 115–127. DOI: 10.1016/j.jplph.2016.11.008

Sicko-Goad L., Hall J., Lazinsky D. et al. 1989. Effects of chlorinated benzenes on diatom fatty acid composition and quantitative morphology. II. 1,3,5-Trichlorobenzene. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 18(5): 638–646. DOI: 10.1007/BF01225002

Smith S.R., Gl C., Abbriano R.M. et al. 2016. Transcript level coordination of carbon pathways during silicon starvation-induced lipid accumulation in the diatom *Thalassiosira pseudonana*. New Phytologist 210: 890–904. DOI: 10.1111/nph.13843

Tanaka T., Moriya S., Nonoyama T. et al. 2024. Lipid droplets-vacuoles interaction promotes lipophagy in the oleaginous diatom *Fistulifera solaris*. Algal Research 79: 103481. DOI: 10.1016/j.algal.2024.103481

Yang Z., Zheng J., Niu Y. 2014. Systems-level analysis of the metabolic responses of the diatom *Phaeodactylum tricornutum* to phosphorus stress. Environmental Microbiology 16: 1793–1807. DOI: 10.1111/1462-2920.12411

Yang Z.-K., Niu Y.-F., Ma Y.-H. et al. 2013. Molecular and cellular mechanisms of neutral lipid accumulation in diatom following nitrogen deprivation. Biotechnology for Biofuels 6: 67. DOI: 10.1186/1754-6834-6-67

Zhao L., Dai J., Wu Q. 2014. Autophagy-like processes are involved in lipid droplet degradation in *Auxenochlorella protothecoides* during the heterotrophy-autotrophy transition. Frontiers in Plant Science 5: 400.

Zienkiewicz A., Zienkiewicz K., Poliner E. et al. 2020. The microalga *Nannochloropsis* during transition from quiescence to autotrophy in response to nitrogen availability. Plant Physiology 182: 819–839. DOI: 10.1104/pp.19.00854

Zienkiewicz K., Du Z.Y., Ma W. et al. 2016. Stress-induced neutral lipid biosynthesis in microalgae: molecular, cellular and physiological insights. Biochimica et Biophysica Acta 1861: 1269–1281. DOI: 10.1016/j.bbalip.2016.02.008

Оригинальная статья

Ультраструктурная характеристика биогенеза липидных капель и микролипофагии у пеннатной диатомеи *Encyonema silesiacum*

Бедошвили Е.Д.*, Орлова А.А., Захарова Ю.Р.

Лимнологический институт, Сибирское отделение Российской академии наук, ул. Улан-Баторская, 3, Иркутск, 664033, Россия

АННОТАЦИЯ. Липидные капли диатомовых водорослей – динамичные органеллы, необходимые для энергетического и липидного обмена в клетке, однако их внутриклеточный жизненный цикл остается в значительной степени неизученным на ультраструктурном уровне. В настоящей работе была исследована динамика липидных капель у пеннатной диатомовой водоросли *Encyonema silesiacum* с помощью флуоресцентной и просвечивающей электронной микроскопии. Оценка размеров и количества липидных капель осуществлялась с помощью окраски BDP 505/515. Показано, что при культивировании в течение 5 дней липидные капли имели диаметр 0,6 ± 0,1 мкм, а при увеличении времени культивирования до 25 дней – 0,8 ± 0,2 мкм, т.е. с увеличением возраста культуры наблюдалось увеличение размеров, что указывало на стресс-индуцированное накопление ТАГ. Мы предполагаем, что липидные капли полностью переносятся в вакуоли с последующей морфологической деградацией. Анализ данных литературы позволяет предположить, что полное поглощение липидных капель вакуолями представляет собой широко распространенный и консервативный путь микролипофагии у диатомовых водорослей. Полученные результаты способствуют пониманию разнообразия липидного метаболизма у диатомовых водорослей.

Ключевые слова: *Encyonema silesiacum*, липидные капли, микролипофагия, вакуоль, просвечивающая электронная микроскопия, диатомовые водоросли

Для цитирования: Бедошвили Е.Д., Орлова А.А., Захарова Ю.Р. Ультраструктурная характеристика биогенеза липидных капель и микролипофагии у пеннатной диатомеи *Encyonema silesiacum* // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - С. 523-536. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-523

1. Введение

Диатомовые водоросли (филум Bacillariophyta) – группа одноклеточных эукариот, обладающих уникальной способностью синтезировать видоспецифичные кремнеземные панцири (Round et al., 1990). В настоящее время филум насчитывает 10 классов (Kociolek et al., 2026) с разнообразной симметрией панциря. Согласно современной филогении, виды с мультирадиальной и полярной симметрией относятся к шести классам (Coretrophycaea, Leptocylindrophyceae, Melosirophycaea, Coscinodiscophyceae, Thalassiosirophyceae и Biddulphiophyceae), тогда как билатеральная симметрия характерна для классов Striatellaphyceae, Plagiogrammaphyceae, Fragilariophyceae и Bacillariophyceae (Kociolek et al., 2026).

Помимо морфологической уникальности, диатомовые водоросли, как и другие эукариотические микроводоросли, привлекают внимание в качестве продуцентов триацилглицеролов (ТАГ), запасаемых в составе липидных капель (ЛК) – специализированных органелл (Goold et al., 2015; Maeda et al., 2017). В зависимости от условий культивирования, в том числе при стрессе, диатомовые водоросли синтезируют разнообразный репертуар насыщенных и ненасыщенных жирных кислот, которые накапливаются в ЛК. Липидные капли представляют собой не инертные включения, а динамичные органеллы, играющие ключевую роль в энергетическом и липидном гомеостазе клетки. Размер и количество ЛК варьируют в широких пределах (от 0,3 до 5,6 мкм в диаметре) в зависимости от условий среды и фазы накопления липидов (Maeda et al., 2017; Cvjetinovic et al., 2024).

*Автор для переписки. Адрес e-mail: bedoshvili@lin.irk.ru (Е.Д. Бедошвили)

Поступила: 30 июня 2026;
Принята после доработки: 15 августа 2026;
Опубликована online: 28 августа 2026

© Автор(ы) 2026. Эта работа распространяется под международной лицензией Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.

У большинства эукариот биогенез ЛК консервативный процесс: нейтральные липиды накапливаются между листками мембраны эндоплазматического ретикулума (ЭР), формируют линзы и отпочковываются в цитозоль, после чего взаимодействуют с митохондриями и пероксисомами (Olzmann and Carvalho, 2019). В клетках микроводорослей, в отличие от большинства высших растений, ЛК функционируют как временные органеллы (Zienkiewicz et al., 2016): в ответ на изменения окружающей среды клетки расщепляют ТАГ и эфиры стеролов, высвобождая липиды для синтеза мембран и выработки метаболической энергии.

Одним из ключевых путей деградации ЛК является липофагия – процесс, опосредованный аутофагией. У зеленых водорослей показано, что липофагия происходит в вакуолях (Zhao et al., 2014; Schwarz et al., 2017; Kokabi et al., 2020; Zienkiewicz et al., 2020). Различают два типа липофагии: макролипофагию, включающую формирование фагофора и его преобразование в аутофагосому, и микролипофагию, при которой ЛК переносится в вакуоль без образования аутофагосомы (Garcia et al., 2018). Для диатомовых водорослей предполагается существование новых, ранее неизвестных путей микролипофагии (Nonoyama et al., 2019; Tanaka et al., 2024). В работе Танака с соавторами (2024) на модели *Fistulifera solaris* S. Mayama, M. Matsumoto, K. Nemoto & T. Tanaka с использованием протеомного анализа и ингибирования аутофагии хлорохином было показано, что деградация ЛК у этой диатомеи действительно происходит через липофагию. Флуоресцентная микроскопия выявила увеличение контакта вакуолей с ЛК в условиях, стимулирующих деградацию липидов; этот процесс подавлялся ингибиторами аутофагии. Просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ) продемонстрировала прямое слияние вакуолей и ЛК, что позволило авторам предположить наличие у *F. solaris* нового типа микролипофагии, при котором деградация происходит при частичном (не полном) погружении ЛК в вакуоль (Tanaka et al., 2024).

Тем не менее, работа Танака с соавторами (2024) остается одним из немногих ультраструктурных исследований деградации ЛК у диатомовых водорослей. Несмотря на растущий интерес к этой группе микроводорослей, особенности формирования, созревания и деградации ЛК в процессе их внутриклеточного перемещения остаются малоизученными. Учитывая высокое морфологическое разнообразие диатомей, можно предположить, что микролипофагия у разных видов может иметь видоспецифичные ультраструктурные характеристики. Детальные исследования биологии ЛК у диатомовых водорослей необходимы для восполнения пробела в знаниях о фундаментальных особенностях клеточной организации и метаболизме липидов этой группы.

В настоящей работе мы выбрали в качестве модели *Encyonema silesiacum* (Bleisch) D.G. Mann – представителя пресноводных шовных пеннатных диатомей (класс Bacillariophyceae), для которого ультраструктурная динамика ЛК ранее не изучалась. Целью исследования было охарактеризовать ультраструктурную динамику ЛК *in situ* с использованием флуоресцентной микроскопии (окрашивание BDP 505/515) и ПЭМ. Особое внимание уделено внутриклеточной локализации ЛК и их трансформации при погружении в вакуоль.

2. Материалы и методы

2.1. Условия культивирования

Штамм *Encyonema silesiacum* Ov460 был выделен из пробы, отобранной в р. Енисей в 2019 г. Клетки выращивали на среде DM (Culture collection…, 1988) при температуре 8 °C и освещенности 300 мкмоль $м^{-2}$ $с^{-1}$ в режиме 12 ч света: 12 ч темноты. Культуру поддерживали в 50-мл колбах Эрленмейера с пересевом каждые 60 дней. Для экспериментов использовали культуру через 5 и 25 дней после пересева. Каждая временная точка представлена тремя биологическими повторностями.

2.2. Световая и флуоресцентная микроскопия

Живые клетки из культур 5- и 25-суточного возраста окрашивали для визуализации ЛК флуоресцентным красителем BDP 505/515 (Lumiprobe, Россия), специфичным к нейтральным липидам. Раствор красителя с концентрацией 5 мМ добавляли в среду с клетками до конечной концентрации 2 мкМ. Через 30 мин инкубации в темноте клетки дважды отмывали фосфатным буфером (0,1 М, pH 7,0) и анализировали с помощью микроскопа Olympus IX83 (Olympus, Japan), оснащенным флуоресцентным фильтр-кубом U-FBNA (возбуждение при 470–495 нм, эмиссия 510–550 нм). Автофлуоресценция хлоропластов визуализировалась с помощью флуоресцентного фильтр-куба U-FGNA (возбуждение 360–370 нм, эмиссия 420–460 нм). Микрофотографии получены с помощью цифровой камеры Olympus DP74 и пакета программ CellSens 4.1.

2.3. Измерение размеров липидных капель и статистическая обработка

Для оценки размеров ЛК проводили измерения на флуоресцентных микрофотографиях. В каждой временной точке анализировали не менее 30 случайно выбранных клеток из трех повторностей. Измеряли все видимые ЛК в каждой клетке. Для сравнения размеров ЛК между культурами 5- и 25-суточного возраста использовали непараметрический U-критерий Манна–Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

2.4. Просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ)

Клетки 25-суточной культуры фиксировали в течение 3 ч в 2,5% растворе глутарового альдегида (Sigma-Aldrich, США) в фосфатном буфере (0,1

М, pH 7,0). После отмывки в том же буфере (3 раза по 15 мин) образцы дополнительно фиксировали в 1% растворе тетраоксида осмия на фосфатном буфере в течение 12 ч при 4°С. Обезвоживание в серии этанола возрастающей концентрации (30, 50, 70, 80, 96 и 100%) и ацетона, а также заключение в эпоксидную смолу Araldite 502 Kit (SPI, США) проводили по стандартному протоколу (Bedoshvili and Likhoshway, 2012).

Ультратонкие срезы толщиной 60–70 нм готовили на ультрамикротоме Ultracut R (Leica, Германия) с помощью алмазного ножа ULTRA 35 (Diatom, Швейцария). Срезы помещали на медные сетки с формваровой подложкой и контрастировали насыщенным водным раствором уранила ацетата (20 мин) и цитратом свинца по Рейнольдсу (5 мин). Анализ препаратов проводили на трансмиссионном электронном микроскопе Leo 906 E (Zeiss, Германия) при ускоряющем напряжении 80 кВ. Микрофотографии получали с помощью цифровой камеры MegaView II (Zeiss, Германия).

Были исследованы срезы 50 разных клеток. Для анализа использовали только поперечные срезы, проходящие через центральную часть клетки, а также продольные и косые срезы, позволяющие однозначно идентифицировать основные органеллы.

3. Результаты

Клетки *E. silesiacum* имели длину 14,5 ± 1,6 мкм и ширину 5,4 ± 0,3 мкм. В каждой клетке присутствовал единственный хлоропласт, прижатый к более узкой части клетки с лопастями, расположенными на лицевых частях обеих створок (Рис. 1). Анализ клеток в культуре разного возраста, окрашенных BDP 505/515, показало наличие в цитоплазме ЛК размером 0,6 ± 0,1 мкм в диаметре для 5-дневной культуры и 0,8 ± 0,2 мкм в диаметре для 25-дневной культуры (Рис. 1, 2). Всего проанализированы 81 капля для 5-дневной культуры и 192 капли для 25-дневной культуры. Обнаружено статистически значимое увеличение диаметра ЛК в 25-дневной культуре по сравнению с 5-дневной (медианы составили 0,794 мкм и 0,604 мкм соответственно; $U = 2757$, $p < 0,05$). Количество капель на клетку имело тенденцию к увеличению. Для 5-дневной культуры было характерно наличие 6 ± 2 ЛК на клетку (в данном случае в анализ были включены клетки с видимыми окрашенными ЛК), а для 25-дневной культуры – 8 ± 4 капли на клетку. Приведенные значения числа ЛК на клетку имеют качественный характер и отражают наблюдаемый диапазон гетерогенности в культуре.

По данным ПЭМ ультраструктура клеток исследованного штамма соответствует данным, полученным для этого вида ранее (Рис. 3; Bedoshvili et al., 2018). На продольных срезах четко видны две крупные вакуоли (Рис. 3Б). ПЭМ позволила выявить различные варианты расположения ЛК в цитоплазме (Рис. 4). На срезах ЛК имели вид округлых телец с однородным содержимым различной электронной плотности. ЛК располагались как полностью в цитоплазме (Рис. 4А-В), так и могли быть частично погружены в вакуоль (Рис. 4Г-Е). В обоих случаях ЛК могли быть связаны с цистерной ЭПР (Рис. 4А, Д).

Установлена локализация ЛК также и в вакуолях, при этом наблюдалось изменение их морфологии – внутри появлялись полости различной плотности (Рис. 5). Плотность большинства этих структур не позволило эпоксидной смоле достаточно эффективно проникнуть в них, в связи с этим на срезах ЛК в вакуолях видны крупные отверстия (Рис. 5А, Б, Г). Такие остаточные ЛК в вакуолях могли занимать большую часть вакуоли (Рис. 5Б). На Рисунке 5 представлены ЛК, находящиеся на ранней стадии (Рис. 5В) и более поздней стадии

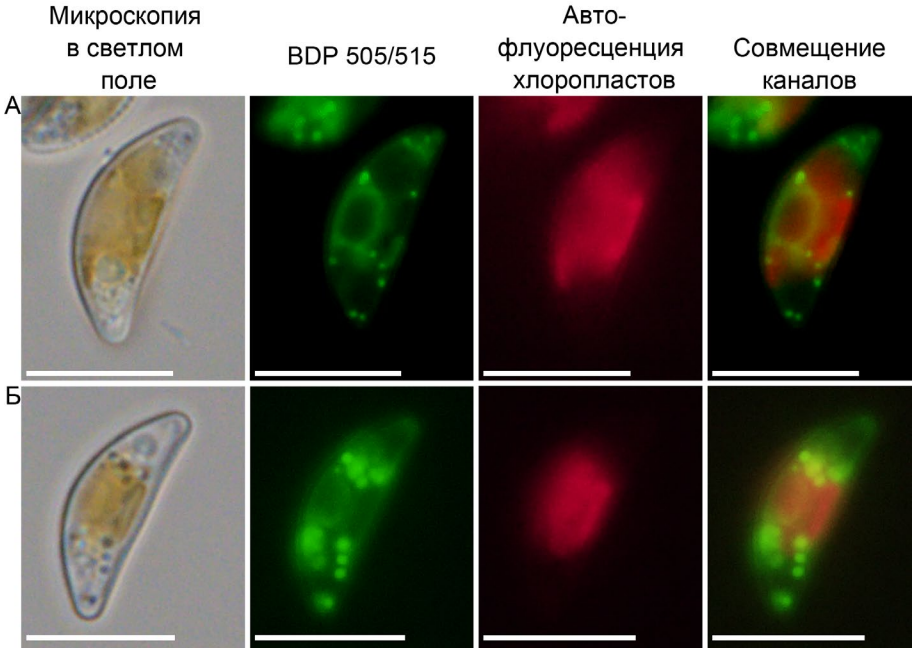


Рис.1. Окраска липидных капель в живых клеток *Encyonema silesiacum* с помощью BDP 505/515 (Световая и флуоресцентная микроскопия). А – клетки в 5-дневной культуре; Б – клетки в 25-дневной культуре. Масштаб – 10 мкм.

(Рис. 5Г) морфологических изменений, происходящих в вакуоли. В вакуолях наряду с деградирующими ЛК обнаруживаются также остатки мембран неизвестного происхождения.

4. Обсуждение

Окраска BDP 505/515 позволила выявить в клетках *E. silesiacum* ЛК и количественно оценить их диаметр в культурах разного возраста. Увеличение размеров ЛК при длительном культивировании показано для многих видов микроводорослей (Goold et al., 2015) и рассматривается как адаптивный ответ на исчерпание питательных веществ в среде. У диатомовых водорослей усиленный биогенез ЛК связывают с дефицитом кремния (Roessler, 1988; Smith et al., 2016), азота (Hu et al., 2008; Levitan et al., 2015; Yang et al., 2013) или фосфора (Lombardi and Wangersky, 1991; Yang et al., 2014). Хотя в нашем исследовании мы не проводили прямого измерения концентрации питательных веществ или кривых роста культуры, мы предполагаем, что культивирование *E. silesiacum* без замены среды в течение 25 дней привело к истощению одного или нескольких из этих элементов, что, в свою очередь, стимулировало накопление триацилглицеролов и увеличение размера ЛК. В целом культивирование без смены среды можно рассматривать как модель стрессовой индукции накопления ТАГ в клетках диатомовых водорослей в результате дефицита биогенных элементов, а также, возможно, и накопления метаболитов в среде.

Ультраструктура клеток *E. silesiacum*, детально описанная ранее (Bedoshvili et al., 2018), является типичной для пеннатных диатомей и обладает всеми характерными признаками: единственный лопастный хлоропласт, прилежащий к створке и содержащий пиреноид, пересекаемый тилакоидной ламеллой; ядро, окруженное диктиосомами и митохондрии с тубулярными кристами (Round et al., 1990). В цитоплазме исследованного вида присутствуют многочисленные везикулы, выраженные цистерны ЭР и две крупные вакуоли, занимающие значительную часть объема клетки.

Особенно интересна обнаруженная нами ассоциация ЛК с цистернами ЭПР (Рис. 4А, Д). Эта

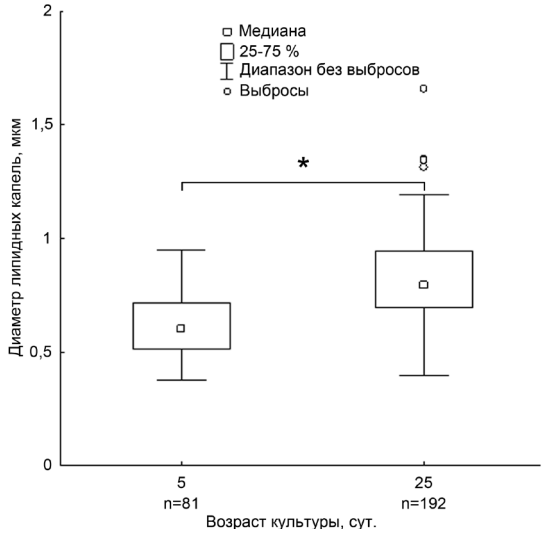


Рис.2. Коробчатая диаграмма, отражающая диаметр липидных капель в культуре *Encyonema silesiacum* разного возраста. Диаметр липидных капель значительно увеличивался со временем культивирования ($p < 0,05$, критерий Манна-Уитни). На рисунке статистическая значимость различий между группами с 5- и 25-дневным культивированием обозначена звездочкой (*) над соединительной линией.

связь хорошо согласуется с канонической моделью биогенеза ЛК, согласно которой нейтральные липиды накапливаются между листками мембраны ЭПР, формируют линзы и впоследствии отпочковываются в цитозоль (Olzmann and Carvalho, 2019; Leyland et al., 2020). Присутствие ЛК, ассоциированных с ЭПР, как в цитоплазме, так и в позиции частичного погружения в вакуоль, позволяет предположить, что транспорт ЛК к вакуоли может происходить одновременно с продолжающимся биогенезом новых капель, что особенно актуально в условиях стресса.

В последние годы накапливаются данные о многочисленных функциях вакуолей у диатомовых водорослей. Они служат местом хранения питательных веществ (Kooistra et al., 2007; Behrenfeld et al., 2021), хризоламинарина (Chiovitti et al., 2004; Huang et al., 2016), а также, предположительно, могут различаться по функциональной специализации в пределах одной клетки. Важнейшей функцией вакуолей у микроводорослей, включая диатомей,

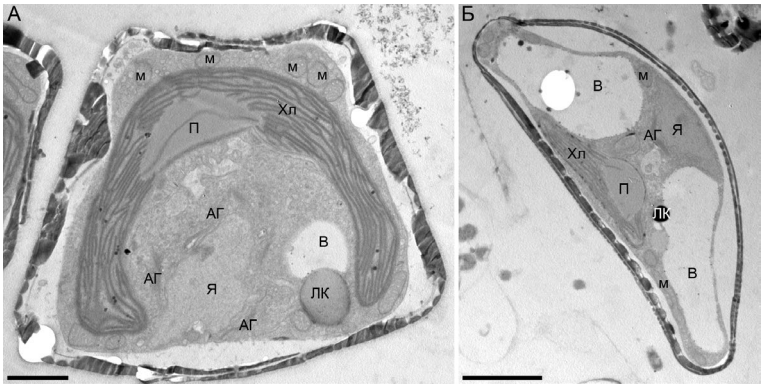


Рис.3. Ультраструктура клеток *Encyonema silesiacum* из 25-дневной культуры (ПЭМ). А – поперечный срез клетки; Б – продольный срез клетки. Условные обозначения: АГ – аппарат Гольджи; В – вакуоль; ЛК – липидная капля; м – митохондрия; П – пиреноид; Хл – хлоропласт. Масштаб: А – 1 мкм; Б – 2 мкм.

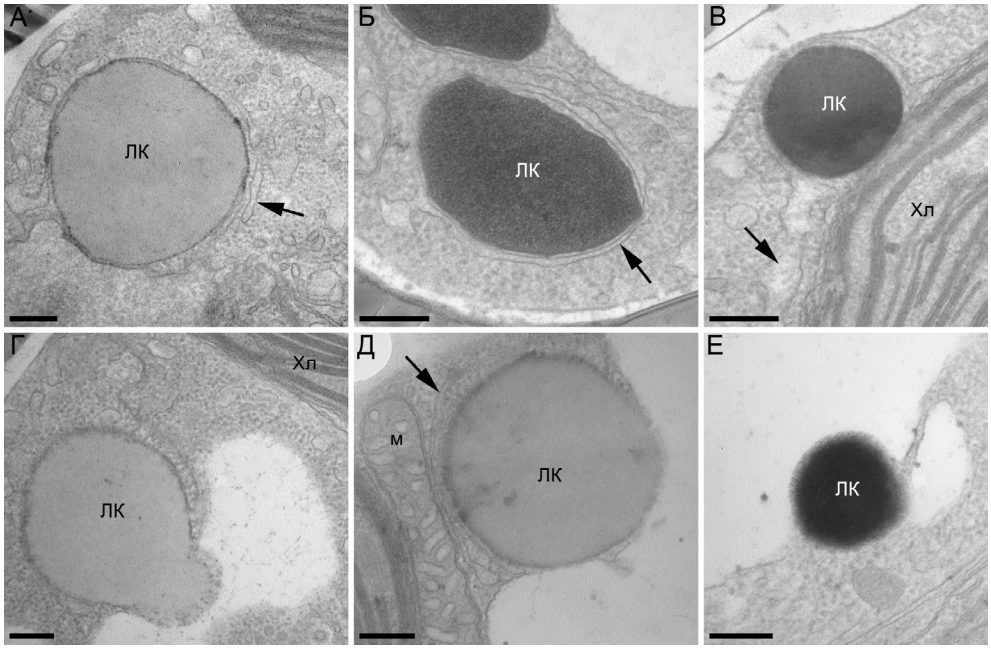


Рис.4. Ультраструктура липидных капель *Encyonema silesiacum* в цитоплазме клеток из 25-дневной культуры (ПЭМ). А-В – срезы липидных капель, полностью локализующихся в цитоплазме; Г-Е – липидные капли, частично расположенные в цитоплазме. Черные стрелки показывают цистерны ЭПР. Условные обозначения: ЛК – липидная капля; м – митохондрия; Хл – хлоропласт. Масштаб – 200 нм.

являются процессы аутофагии (Laude et al., 2024; Nonoyama et al., 2019; Tanaka et al., 2024). Ранее для центрической диатомеи *Cyclotella meneghiniana* Kützing было показано, что воздействие ксенобиотиков (хлорированных бензолов и хрома) вызывает появление в вакуолях аутофагосомоподобных структур (Sicko-Goad et al., 1989; Lazinsky and Sicko-Goad, 1990). Аутофагические компартменты у микроводорослей ограничены одиночной мембраной, что идентифицирует их именно как вакуоли, а не классические аутофагосомы.

Полученные данные о локализации и морфологии ЛК у *E. silesiacum* позволяют существенно расширить представления о механизмах липофагии у диатомей. В отличие от модели *F. solaris*, где наблюдалось лишь частичное слияние ЛК с вакуолью, у *E. silesiacum* был зафиксирован полный перенос ЛК в вакуолярный компартмент с их последующей морфологической трансформацией (Рис. 4, 5). Это позволяет выделить у *E. silesiacum* последователь-

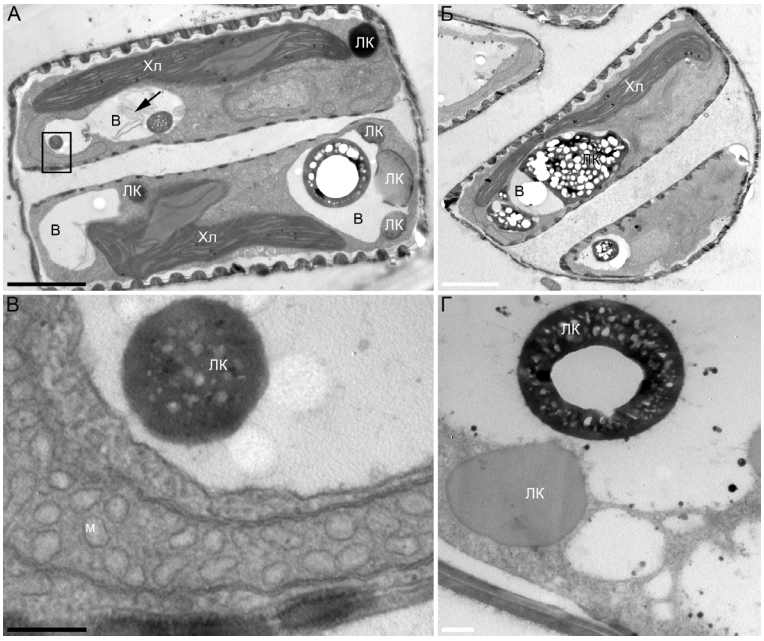


Рис.5. Ультраструктура липидных капель *Encyonema silesiacum* в вакуолях клеток из 25-дневной культуры (ПЭМ). А – косой срез клеток, проходящих формирование створки после деления, в клетке представлены все возможные типы локализации липидных капель у исследованного вида, черная стрелка указывает на мембраны неизвестного происхождения внутри вакуоли; Б – косой срез через клетки, формирующие створки после деления, липидные капли занимают большую часть вакуолей; В – увеличенный фрагмент рисунка 5А, липидная капля находится на ранней стадии изменения морфологии после ее переноса в вакуоль; Г – липидная капля на поздней стадии изменения морфологии в вакуоли. Условные обозначения: В – вакуоль; ЛК – липидная капля; м – митохондрия; Хл – хлоропласт. Масштаб: А, Б – 2 мкм; В, Г – 200 нм.

ные стадии вакуолярной липофагии: инициация, когда ЛК локализуется в цитоплазме; инвагинация, при которой ЛК локализуется на границе вакуоли (в разной степени погружения) и полный перенос и деградация – при этом ЛК находится внутри вакуоли и имеет признаки деструкции. Наиболее вероятно, что измененные ЛК в вакуолях имеют иную химическую природу, нежели цитоплазматические капли. Плохая пропитка эпоксидной смолой указывает на то, что в вакуолярной среде происходит модификация ЛК с частичным окислением или гидролизом ТАГ, что меняет их физико-химические свойства.

Представленные нами данные позволяют по-новому взглянуть на разнообразие механизмов микролипофагии у диатомовых водорослей. Наблюдаемое у *E. silesiacum* полное погружение ЛК в вакуоль, наиболее вероятно, не является видоспецифичной особенностью, а может представлять собой более консервативный и широко распространенный механизм среди Bacillariophyta. В ранее опубликованных ультраструктурных работах, включая классические цитологические описания (Helmcke and Krieger, 1966 – Plates 588, 596, 602, etc.) и относительно новые исследования (Bedoshvili et al., 2009 – Fig 4c; Cvjetinovic et al., 2024 – Fig. 8D, D') неоднократно встречаются изображения ЛК внутри вакуолей, однако эти структуры не интерпретировались как стадии микролипофагии и не привлекали внимание исследователей, сфокусированных на других аспектах цитологии диатомовых водорослей. В этой связи особенно примечательной выглядит модель *F. solaris*, описанная Танака с соавторами (2024), где микролипофагия ограничивается частичным контактом ЛК с вакуолью без полного поглощения, даже несмотря на изменение объема вакуоли. Такое различие позволяет предположить, что у *F. solaris* данный путь деградации либо заблокирован на стадии инвагинации мембраны, либо замещен альтернативным механизмом, что делает этот вид скорее исключением среди изученных диатомей, нежели демонстрацией универсального правила.

5. Заключение

Наши данные были получены исключительно с помощью статической электронной микроскопии, которая фиксирует клетки в определенный момент времени и предоставляет лишь «моментальные снимки» внутриклеточных процессов. Наблюдения липидных капель, локализованных в цитоплазме, на границе вакуоли или внутри вакуоли, предоставляют косвенные ультраструктурные доказательства, которые мы можем интерпретировать как последовательные стадии. Подтверждение липофагии в современных исследованиях требует использования молекулярных маркеров (например, колокализация липидных капель с белками аутофагосом или вакуолярной мембраны), ингибиторов аутофагии или прижизненной визуализации (Tanaka et al., 2024). Тем не менее, представленные данные способствуют нашему пониманию морфологического разнообразия липофагических путей у диатомовых водорослей и составляют основу для будущих молекулярных исследований.

Благодарности

Микроскопия проводилась в центре коллективного пользования «Ультрамикроанализ» ЛИН СО РАН, https://www.lin.irk.ru/copp/.

Данное исследование было поддержано Министерством науки и высшего образования Российской Федерации, проект № 1023032700153-7-1.6.17(ФВСР-2026-0001) (Лимнологический институт, Сибирское отделение Российской академии наук).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Список литературы

Bedoshvili Y.D., Gneusheva K.V., Popova M.S. et al. 2018. Frustule morphogenesis of raphid pennate diatom *Encyonema ventricosum* (Agardh) Grunow. Protoplasma 255(3): 911–921. DOI: 10.1007/s00709-017-1199-4

Bedoshvili Ye.D., Likhoshway Ye.V. 2012. The cell ultrastructure of diatoms – implications for phylogeny? The transmission electron microscope. In: Maaz K. (Ed.). InTech: Chroatia, pp. 147–160.

Bedoshvili Ye.D., Popkova T.P., Likhoshway Ye.V. 2009. Chloroplast structure of diatoms of different classes. Cell and Tissue Biology 3: 297–310. DOI: 10.1134/S1990519X09030122

Behrenfeld M.J., Halsey K.H., Boss E. et al. 2021. Thoughts on the evolution and ecological niche of diatoms. Ecological Monographs 91: e01457. DOI: 10.1002/ecm.1457

Chiovitti A., Molino P., Crawford S.A. et al. 2004. The glucans extracted with warm water from diatoms are mainly derived from intracellular chrysolaminaran and not extracellular polysaccharides. European Journal of Phycology 39: 117–128. DOI: 10.1080/0967026042000201885

Culture Collection of Algae and Protozoa: Catalogue of Strains. 1988. In: Thompson A.S., Rhodes J.C., Pettman I. (Eds). Ambleside, UK: Freshwater Biological Association.

Cvjetinovic J., Bedoshvili Y.D., Davidovich N.A. et al. 2024. Exploring salinity induced adaptations in marine diatoms using advanced photonic techniques. Scientific Reports 14(1): 32007. DOI: 10.1038/s41598-024-83640-9

Garcia E.J., Vevea J.D., Pon L.A. 2018. Lipid droplet autophagy during energy mobilization, lipid homeostasis and protein quality control. Frontiers in Bioscience 23: 1552.

Goold H., Beisson F., Peltier G. et al. 2015. Microalgal lipid droplets: composition, diversity, biogenesis and functions. Plant Cell Reports 34: 545–555. DOI: 10.1007/s00299-014-1711-7

Helmcke J.G., Krieger W. 1966. Diatomeenschalen im elektronenmikroskopischen Bild. Teil. VI. Electron Microscopy of Diatom Cells. Bearbeitet von R.W. Drum, H.S. Pankratz, E.F. Stoermer. 100 Tafeln (Originalphotos) in Kassette im Textheft. J. Cramer, Lehre. DM 100.

Hu Q., Sommerfeld M., Jarvis E. et al. 2008. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: Perspectives and advances. The Plant Journal 54: 621–639. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2008.03492.x

Huang W., Rio Bartulos C., Kroth P.G. 2016. Diatom vacuolar 1,6-beta-transglycosylases can functionally complement the respective yeast mutants. Journal of Eukaryotic Microbiology 63: 536–546. DOI: 10.1111/jeu.12298

Kociolek J.P., Ashworth M.P., Alverson A.J. 2026. A phylogenetic classification of diatoms (Bacillariophyta). Journal of Phycology 62: 44–67. DOI: 10.1111/jpy.70125

Kokabi K., Gorelova O., Zorin B. et al. 2020. Lipidome remodeling and autophagic respose in the arachidonic-acid-rich microalga *Lobosphaera incisa* under nitrogen and phosphorous deprivation. Frontiers in Plant Science 11: 614846. DOI: 10.3389/fpls.2020.614846

Kooistra W.H.C.F., Gersonde R., Medlin L.K. et al. 2007. The origin and evolution of the diatoms: their adaptation to a planktonic existence. In: Falkowski P., Knoll A.H. (Eds), Evolution of primary producers in the sea. Burlington, MA, USA: Elsevier Inc., pp. 207–249.

Laude J., Scarsini M., Nef C. et al. 2024. Evolutionary conservation and metabolic significance of autophagy in algae. Philosophical Transactions of the Royal Society B 379: 20230368. DOI: 10.1098/rstb.2023.0368

Lazinsky D., Sicko-Goad L. 1990. Morphometric analysis of phosphate and chromium interactions in *Cyclotella meneghiniana*. Aquatic Toxicology 16: 127–140. DOI: 10.1016/0166-445X(90)90082-Z

Levitan O., Dinamarca J., Zelzion E. et al. 2015. Remodeling of intermediate metabolism in the diatom *Phaeodactylum tricornutum* under nitrogen stress. Proceedings of the National Academy of Sciences USA 112: 412–417. DOI: 10.1073/pnas.1419818112

Leyland B., Boussiba S., Khozin-Goldberg I. 2020. A review of diatom lipid droplets. Biology (Basel) 9(2): 38. DOI: 10.3390/biology9020038

Lombardi A.T., Wangersky P.J. 1991. Influence of phosphorus and silicon on lipid class production by the marine diatom *Chaetoceros gracilis* grown in turbidostat cage cultures. Marine Ecology Progress Series 77: 39–47.

Maeda Y., Nojima D., Yoshino T. et al. 2017. Structure and properties of oil bodies in diatoms. Philosophical Transactions of the Royal Society B 372: 20160408. DOI: 10.1098/rstb.2016.0408

Nonoyama T., Nojima D., Maeda Y. et al. 2019. Proteomics analysis of lipid droplets indicates involvement of membrane trafficking proteins in lipid droplet breakdown in the oleaginous diatom *Fistulifera solaris*. Algal Research 44: 11. DOI: 10.1016/j.algal.2019.101660

Olzmann J.A., Carvalho P. 2019. Dynamics and functions of lipid droplets. Nature Reviews Molecular Cell Biology 20(3): 137–155. DOI: 10.1038/s41580-018-0085-z

Roessler P.G. 1988. Effects of silicon deficiency on lipid composition and metabolism in the diatom. Journal of Phycology 24: 394–400. DOI: 10.1111/j.1529-8817.1988.tb04482.x

Round F.E., Crawford R.M., Mann D.G. 1990. The Diatoms. Biology and Morphology of the Genera. Cambridge: Cambridge University Press.

Schwarz V., Andosch A., Geretschläger A. et al. 2017. Carbon starvation induces lipid degradation via autophagy in the model alga micrasterias. Journal of Plant Physiology 208: 115–127. DOI: 10.1016/j.jplph.2016.11.008

Sicko-Goad L., Hall J., Lazinsky D. et al. 1989. Effects of chlorinated benzenes on diatom fatty acid composition and quantitative morphology. II. 1,3,5-Trichlorobenzene. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 18(5): 638–646. DOI: 10.1007/BF01225002

Smith S.R., Gl C., Abbriano R.M. et al. 2016. Transcript level coordination of carbon pathways during silicon starvation-induced lipid accumulation in the diatom *Thalassiosira pseudonana*. New Phytologist 210: 890–904. DOI: 10.1111/nph.13843

Tanaka T., Moriya S., Nonoyama T. et al. 2024. Lipid droplets-vacuoles interaction promotes lipophagy in the oleaginous diatom *Fistulifera solaris*. Algal Research 79: 103481. DOI: 10.1016/j.algal.2024.103481

Yang Z., Zheng J., Niu Y. 2014. Systems-level analysis of the metabolic responses of the diatom *Phaeodactylum tricornutum* to phosphorus stress. Environmental Microbiology 16: 1793–1807. DOI: 10.1111/1462-2920.12411

Yang Z.-K., Niu Y.-F., Ma Y.-H. et al. 2013. Molecular and cellular mechanisms of neutral lipid accumulation in diatom following nitrogen deprivation. Biotechnology for Biofuels 6: 67. DOI: 10.1186/1754-6834-6-67

Zhao L., Dai J., Wu Q. 2014. Autophagy-like processes are involved in lipid droplet degradation in *Auxenochlorella protothecoides* during the heterotrophy-autotrophy transition. Frontiers in Plant Science 5: 400.

Zienkiewicz A., Zienkiewicz K., Poliner E. et al. 2020. The microalga *Nannochloropsis* during transition from quiescence to autotrophy in response to nitrogen availability. Plant Physiology 182: 819–839. DOI: 10.1104/pp.19.00854

Zienkiewicz K., Du Z.Y., Ma W. et al. 2016. Stress-induced neutral lipid biosynthesis in microalgae: molecular, cellular and physiological insights. Biochimica et Biophysica Acta 1861: 1269–1281. DOI: 10.1016/j.bbalip.2016.02.008

Original Article
LIMNOLOGY FRESHWATER BIOLOGY

Long-term effects of zinc oxide nanoparticles on the autumn phytoplankton of the Black Sea

Shoman N.Yu.*, Solomonova E.S., Akimov A.I.

A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS, Federal Research Center, Sevastopol, Russia

ABSTRACT. The widespread use of zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) in human economic activity makes the issue of assessing their impact on the environment relevant. In the presented work, the effects of ZnO NPs (10-60 μg/L) on Black Sea phytoplankton during long-term cultivation (17 days) under experimental microcosm conditions were studied. A dose-dependent effect of nanoparticle impact on the growth and functional state of phytoplankton of the Black Sea was established. The addition of ZnO NPs led to inhibition of growth, photosynthetic activity, and a decrease in the species diversity of phytoplankton. At 10 and 20 μg/L ZnO NPs, the community abundance maintained a positive trend. However, suppression of the growth rate and a decrease in the final algal abundance to 60 and 21% of control values were noted. At the same time, a decrease in the abundance of mass planktonic species, an increase in the contribution of bentho-planktonic forms, and a change in the size structure of the algocenosis toward the predominance of small-celled species were observed. At 30 and 60 μg/L ZnO NPs, at the initial stage of the experiment, the development of acute toxic stress, suppression of photosynthetic activity and cell division, and a decrease in community abundance were noted. However, further cultivation of the microcosms under these conditions led to the recovery of community growth due to the restructuring of the species structure with subsequent dominance of a small number of tolerant species (mainly bentho-planktonic forms of diatoms, coccolithophores *Emiliania huxleyi*) capable of withstanding a high level of toxic load. Thus, the phytoplankton community is capable of restoring its abundance and photosynthetic activity after acute toxic stress. However, the ability of the community to survive under conditions of chronic contamination is achieved at the cost of simplification of its structure, which leads to a loss of stability and self-regulation and, in the long term, reduces the production potential of the ecosystem.

Keywords: phytoplankton, Black Sea, pollutants, zinc oxide nanoparticles, adaptation

For citation: Shoman N.Yu., Solomonova E.S., Akimov A.I. Long-term effects of zinc oxide nanoparticles on the autumn phytoplankton of the Black Sea // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - P. 537-553. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-537

1. Introduction

Modern ecology faces the challenge of an unprecedented decline in biodiversity caused by a complex of anthropogenic factors (Hald-Mortensen, 2023). Declining population sizes and species extinction lead to the degradation of ecosystem functions, threatening the stability of natural communities. However, in some cases, biological systems demonstrate the ability to maintain viability even under conditions of significant external stress (Ebenman et al., 2004). A community can avoid complete extinction in an environment initially unsuitable for its existence due to phenotypic plasticity or genetic changes that increase tolerance to the stressor. A key indicator of such adaptation is the transition from population decline to sustainable growth under continuing adverse environmental conditions (Ipatova et al., 2015; Morrissey et al., 2015; Yang et al., 2021; Ipatova and Lazareva, 2022).

The mechanisms of adaptation to adverse growth conditions at the single-species level are quite well studied (Low-Décarie et al., 2015; Wang et al., 2025). In contrast, the mechanisms that ensure the survival of multi-species communities remain poorly understood. According to the literature, the key factors increasing the likelihood of adaptation to stressful conditions are

*Corresponding author. E-mail address: n-zaichencko@yandex.ru (N.Yu. Shoman)

Received: June 02, 2026;
Accepted after revised: August 07, 2026;
Available online: August 28, 2026

© Author(s) 2026. This work is distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

a high initial population size (Low-Décarie et al., 2015; Cherabier and Ferriere, 2022) and prior adaptation to sublethal concentrations of a pollutant (Shoman et al., 2024; 2025). The first factor reduces the risk of stochastic extinction during the critical period of population decline, the second promotes the accumulation of resistant genotypes and phenotypes, preparing the population for adverse impacts in the future.

In the context of current environmental threats, zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs), widely used in industry and consumer products, attract particular attention (Hou et al., 2018b; Ghaffari et al., 2019). When released into aquatic environments, these particles exert toxic effects both through the release of zinc ions and through direct contact with algal cells, inducing oxidative stress and membrane damage (Manzo et al., 2013; Suman et al., 2015; Shoman et al., 2024). The Black Sea basin is subject to significant anthropogenic pressure, and the Black Sea phytoplankton communities, characterized by high species diversity, serve as sensitive indicators of such pollution.

It is important to note that standard short-term ecotoxicological tests (72–96 hours) only record acute toxicity and the immediate response of a species/community to stress. They do not allow assessment of long-term adaptation processes, shifts in dominant species, or evolutionary changes, which require time. Assessment of the adaptive potential of a community is only possible under prolonged experimental conditions, since processes of structural reorganization of species composition in favor of tolerant forms, fixation of beneficial mutations, and activation of protective physiological mechanisms require time (Ingrisch and Bahn, 2018). Considering the time factor brings laboratory models closer to real-world chronic pollution scenarios, where adaptation processes play a key role.

In this regard, the aim of this work was to assess the long-term adaptive response of Black Sea phytoplankton to the impact of different concentrations of zinc oxide nanoparticles. A long-term experiment will allow us to characterize changes in abundance, photosynthetic activity, and species structure of the community depending on the level of toxic load and to determine the range of conditions under which community resilience to this impact is maintained.

2. Materials and Methods

2.1. Sampling and primary processing

Seawater samples were collected from the surface layer at a station located on the Sevastopol coastline between Karantinnaya and Sevastopolskaya bays (Sevastopol, Black Sea, 44°38′ N, 33°33′ E) in October 2025. Sampling was carried out into a 10-liter polycarbonate tank. The phytoplankton community in October is characterized by high species diversity, which makes this period the most suitable for conducting model toxicological experiments. The water temperature at the time of sampling was 18°C. The intensity of photosynthetically active radiation (PAR) reaching the sea surface was 31 ± 2 E m^{-2} day^{-1}. PAR values were obtained from satellite observations taken from https://ocean-data.sci.gsfc.nasa.gov. Inorganic nitrogen and phosphorus concentrations in the water were 2.4 ± 0.29 μmol/L and 0.42 ± 0.03 μmol/L, respectively. The content of inorganic nitrogen compounds (NO_3^{2-}+NH_4^+) and phosphorus (PO_4^{2-}) was determined according to methods described in detail in (Grasshoff et al., 1976) (The data presented herein are intended solely to describe the background hydrochemical conditions at the sampling location and do not constitute a subject of detailed analysis in the present study). Immediately after collection, seawater samples were transported to the laboratory, where they were filtered through a nylon filter (300 μm) to remove mesozooplankton. Thereafter, primary analysis of the samples was performed: determination of cell abundance, functional state of the photosynthetic apparatus using the PAM fluorimetry method, and phytoplankton species composition.

2.2. Toxicological test

Zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) purchased from Sigma-Aldrich (purity ≥99.8%, USA) were used as the toxicant. Working solutions were prepared by dispersing the nanoparticles in deionized water. Immediately before use, the solutions were sonicated for one hour in a Sapphire (China) ultrasonic bath to achieve a homogeneous dispersion. The nanoparticles were spherical, with an average size of 84 nm (range 54–117 nm). A detailed description of the ZnO NP characteristics, including electron microscopy and EDS analysis data, as well as the procedure for preparing stock solutions, was published previously (Shoman et al., 2024).

The toxicological test was conducted by creating artificial model microcosms of the algocenosis. For this purpose, the studied filtered seawater was transferred into 250 mL glass flasks, and toxicant solutions were added at concentrations of 10, 20, 30, and 60 μg/L. The nominal concentrations of the toxicants were chosen based on the results of our own preliminary studies on their toxic effects on phytoplankton (Shoman et al., 2025). Samples without toxicant addition were used as controls. After the addition of the toxicants, the experimental microcosms were cultivated in batch mode for 17 days, which allowed the assessment of the long-term effects of NP exposure on the phytoplankton community. The microcosms were incubated in a refrigerated chamber equipped with an LED light source. During the experiment, the chamber maintained a temperature of 18°C, an illumination of 31 E m^{-2} day^{-1}, and a light:dark cycle of 11:13 h. No nutrient medium supplements were added. The specified abiotic conditions were similar to those recorded at the time of water sampling. Each experimental variant was replicated in triplicate. Samples for cytometric and PAM-fluorimetric analysis were taken throughout the experiment daily, except weekends. The identification of dominant microalgal species was performed on days 3 and 14 after toxicant addition. The first temporal point (72 h) represents a standard duration in ecotoxicological research and is recommended for evaluating acute toxicity of contaminants. The second point (14 days) was selected on

the basis of a preliminary analysis of growth dynamics: it is at this time point that the population recovery phase is observed in the experimental treatments amended with the toxicant (see the Results section for further details), thereby enabling the characterization of long-term effects and the resilience of the Black Sea phytoplankton.

2.3. Analytical methods

Phytoplankton abundance was determined using a MACS Quant Analyzer flow cytometer (Miltenyi Biotec, Germany) located at the Collective Use Center "Spectrometry and Chromatography" of IBSS. The phytoplankton community was distinguished by gating on two-dimensional cytograms constructed in dimensionless logarithmic scales based on forward scatter (FS) and chlorophyll autofluorescence in the red spectral region (FL4 channel, 675 nm). FSC Express 7 Research Edition software was used for data processing.

To identify the dominant microalgal species in the initial phytoplankton sample (immediately after collection), the water was concentrated by back-filtration through Whatman GF/C filters with a pore diameter of 1.2 μm. During the experiment (on days 3 and 14), an aliquot was taken from thoroughly mixed experimental samples, and the cells were pelleted by centrifugation at 1000 rpm. The resulting pellet was microscopically examined. Dominant species were identified using a Mikmed-6 microscope (LOMO, Russia) at ×1000 magnification, equipped with a digital camera MS-8.3C (LOMO, Russia) and MCVeiw software (LOMO-Microsystems, Russia). Species were identified using taxonomic keys (Identifying..., 1996) and the AlgaeBase online database (Guiry and Guiry, 2025).

Measurements of the fluorescence of the algal pigment complex were performed using a Mega-25m fluorimeter with pulsed modulation of the excitation light at a wavelength of 455 nm (Genetic and Cellular Therapy LLC, Russia) (Pogosyan et al., 2009). All fluorescence parameters were determined in the red spectral region at a wavelength of 680 nm. Prior to measurement, samples were kept in the dark for 15 minutes. After the dark adaptation period, the parameters *Fo* and *Fm* were measured, where *Fo* is the chlorophyll a fluorescence level with open reaction centers, measured 2.5 μs after the start of irradiation with an intensity of 5000 μmol photons/(m^2·s) (pulse frequency 16 Hz); Fm is the maximum chlorophyll a fluorescence with closed reaction centers, measured 1 s after the start of irradiation with an intensity of 5000 μmol photons/(m^2·s) (pulse frequency 80 Hz).

The relative variable fluorescence (*Fv/Fm*), characterizing the maximum quantum efficiency of light energy utilization, was calculated using the formula:

$$\frac{Fv}{Fm} = \frac{Fm - Fo}{Fm},$$

The *rETR* value at a given constant light intensity I was calculated using the formula:

$$rETR = \frac{Fm' - Fo'}{Fm'} \cdot I \cdot 0.002,$$

where *Fm′* is the maximum chlorophyll a fluorescence yield under constant illumination *Fo′* is the minimum chlorophyll a fluorescence yield under constant illumination; 0.002 is the instrumental coefficient of the Mega-25m fluorometer.

Statistical data processing was performed using standard software packages "Microsoft Excel 7.0" (Microsoft Office), "Grapher-16" (Golden Software). The values presented in the graphs and table represent the arithmetic mean of three measurements. Error bars indicate standard deviations of the reported values. The significance of differences between samples was assessed using the Tukey HSD test at a significance level of $p < 0.05$.

3. Results

3.1. Influence of ZnO NPs on the dynamics of abundance and photosynthetic activity of phytoplankton

The dynamics of the phytoplankton community abundance during long-term cultivation depending on the concentration of ZnO NPs (10, 20, 30 and 60 μg/L) were analyzed. The obtained data demonstrate a pronounced dose-dependent effect of nanoparticles on the growth and development of microalgae. In samples without ZnO NPs, a typical growth curve of microalgae from the logarithmic to the stationary phase was observed, with a regular increase in abundance from 1.53 to 24.68×10^3 cells/mL (Fig. 1). The obtained growth curve indicates the absence of additional limiting factors under cultivation conditions, which allows it to be used as a control.

The addition of ZnO NPs led to a slowdown in phytoplankton growth, while the severity of the toxic effect increased with increasing concentration of the pollutant. At 10 and 20 μg/L ZnO NPs, the community abundance maintained a positive trend throughout the experiment (Fig. 1a). However, suppression of the growth rate and a decrease in the final algal abundance were noted, which by day 17 amounted to 60 and 21% of the control values. At high concentrations of ZnO NPs of 30 and 60 μg/L, up to the 10th day of the experiment, the development of acute toxic stress, critical inhibition of cell division, and a decrease in community abundance to 0.9 and 0.48×10^3 cells/mL, respectively, were observed. However, further cultivation of the microcosms under these conditions led to the recovery of community growth. At 30 μg/L, an increase in cell number was recorded from the 11th day of the experiment, and by the 17th day the final community abundance reached 2.1×10^3 cells/mL (Fig. 1b). At 60 μg/L, the growth recovery phase began on the 14th day of cultivation; by the end of the experiment, the cell abundance was 0.84×10^3 cells/mL (Fig. 1c).

Analysis of the variability of the fluorescence parameters Fv/Fm and rETR allowed obtaining a comprehensive understanding of the functioning of the photosynthetic apparatus of phytoplankton under conditions of chronic contamination with ZnO NPs. The results are presented in Fig. 2 and 3. The Fv/Fm parameter reflects the maximum quantum efficiency of pho-

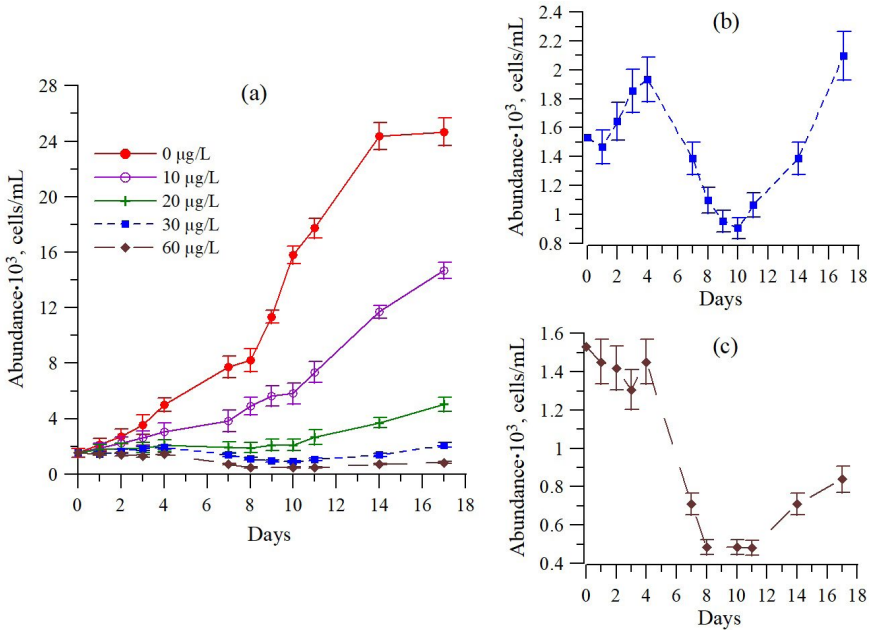


Fig.1. Influence of ZnO NPs on the abundance of phytoplankton in experimental microcosms during long-term cultivation (a). Dynamics of community abundance recovery at 30 (b) and 60 (c) µg/L ZnO NPs.

tosystem II, characterizes the potential capabilities of the light-harvesting complex and reaction centers. In turn, the relative electron transport rate (rETR) demonstrates the real functional activity of the electron transport chain and the coupling of the two photosystems (Suggett et al., 2010; Murchie and Lawson, 2013). In the control sample, both parameters maintained stably high values throughout almost the entire experiment (Fv/Fm = 0.60–0.64; rETR = 0.17–0.20), which indicates a balanced and efficient functioning of the photosynthetic apparatus of the algae. A decrease in the parameter values on the 15–17th days indicates the depletion of mineral nutrition in the medium and the transition to the stationary growth phase.

The addition of ZnO NPs caused a dose-dependent inhibition of the photosynthetic activity of algae. At the same time, both studied parameters demonstrated a coordinated downward trend. The most pronounced inhibition of photosynthetic activity of cells was observed at 30 and 60 µg/L ZnO NPs. On the 7-8th days of the experiment, Fv/Fm values decreased to 0.44–0.45 and 0.40, and rETR to 0.11–0.12 and 0.10, respectively, which indicates damage to the reaction centers of photosystem II and disruption of electron transport. However, during further cultivation of the microcosms under these conditions, the photosynthetic activity of phytoplankton recovered. At 30 µg/L, a significant increase in Fv/Fm and rETR values was observed from the 9th day of the experiment. By the 14th day, the parameter values reached 0.60 and 0.15, respectively, which indicates an almost complete functional recovery of the photosynthetic apparatus (Fig. 2b, 3b). At 60 µg/L ZnO NPs, recovery of both parameters was recorded from the 14th day. By the end of the experiment, the quantum efficiency of photosynthesis increased to 0.52, and rETR to 0.13, demon-

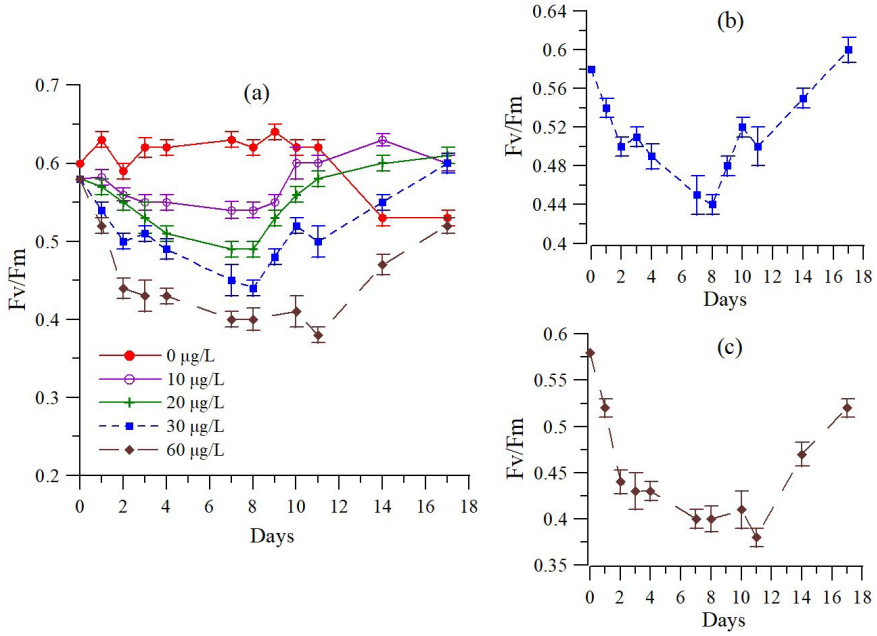


Fig.2. Influence of ZnO NPs on the maximum quantum efficiency of photosynthesis (Fv/Fm) of phytoplankton in experimental microcosms during long-term cultivation (a). Dynamics of Fv/Fm recovery at 30 (b) and 60 (c) µg/L ZnO NPs.

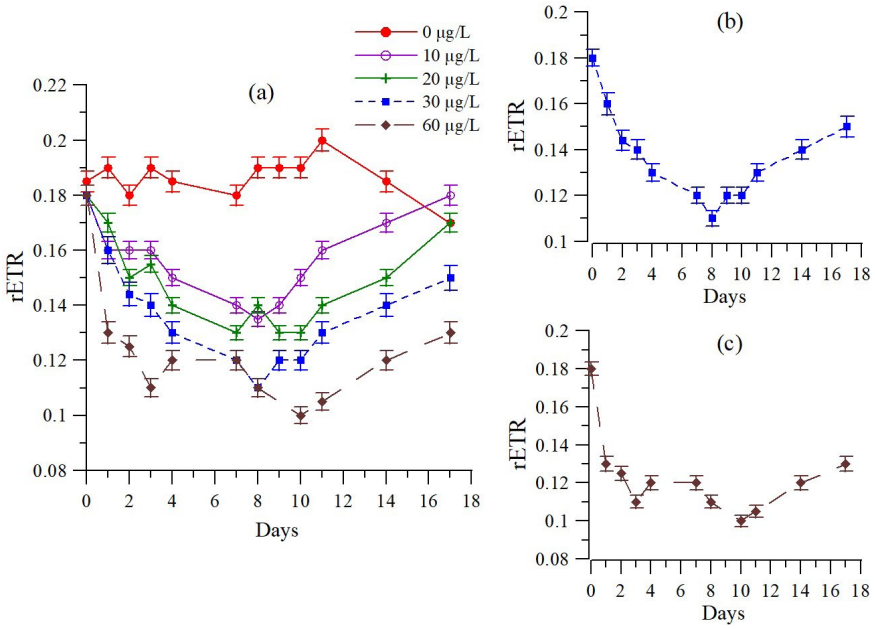


Fig.3. Influence of ZnO NPs on the relative electron transport rate (rETR) of phytoplankton in experimental microcosms during long-term cultivation (a). Dynamics of rETR recovery at 30 (b) and 60 (c) µg/L ZnO NPs.

strating a positive trend in photosynthetic activity, although it did not reach control values (Fig. 2c, 3c). The synchronous recovery of Fv/Fm and rETR indicates that the adaptation processes affect both the structural integrity of photosystem II and the functional activity of the electron transport chain. Thus, during long-term cultivation in a medium with a high content of ZnO NPs, the photosynthetic activity of phytoplankton goes through two successive stages. The first is the phase of acute toxic stress, which is accompanied by inhibition of primary photochemical processes and electron transport. The second is the phase of adaptive recovery, characterized by gradual reactivation of photosystem II and resumption of the functional activity of the electron transport chain. Together, these processes ensure the survival of the population under conditions of chronic contamination.

3.2. Influence of ZnO NPs on the species composition of the phytoplankton community

The original sample exhibited significant phytoplankton species diversity, with a predominance of diatoms (69%), dinoflagellates (20%), and the coccolithophore *Emiliania huxleyi* (Lohmann) W.W. Hay & H. Mohler 1967 (9%). Among the diatoms, large-celled species such as *Pseudosolenia calcar-avis* (Schultze) B.G. Sundström 1986 and *Proboscia alata* (Brightwell) Sundström 1986 were recorded in large numbers, along with representatives of the genera *Chaetoceros* Ehrenberg, 1844, *Thalassiosionema* Proshkina-Lavrenko 1955, *Thalassiosira* Proshkina-Lavrenko 1955, *Cyclotella* Grunow 1878, *Cerataulina* (Cleve) Hendey 1937, *Nitzschia*, and *Coscinodiscus* A. Grunow, 1883. In addition, mass development of bentho-planktonic species was observed, including *Cylindrotheca closterium* (Ehrenberg) Reimann & J.C.Lewin, 1964, *Nitzschia longissima* (Brébisson ex Kützing) Grunow 1862, *Nitzschia tenuirostris* Manguin 1952, and representatives of the genera *Licmophora* C. Agardh, 1827, *Navicula* Bory, 1822, *Tabillaria*, and *Striatella* C.Agardh, 1832. The dinoflagellates also demonstrated considerable taxonomic diversity. The most numerous were representatives of the genera *Prorocentrum* (predominantly *P. cordatum* (Ostenfeld) J.D.Dodge 1976), *Ceratium* F.Schrank, 1793 (predominantly *C. furca* (Ehrenberg) Vanhoeffen 1897, *C. fusus* (Ehrenberg) Dujardin 1841, and *C. tripos* (O.F.Müller) Nitzsch 1817), *Gymnodinium* F.Stein, 1878 (predominantly *G. simplex* (Lohmann) Kofoid & Swezy, 1921 and *G. wulffii* J.Schiller 1932), *Glenodinium, Gyrodinium* (predominantly *G. fusiforme* Kofoid & Swezy 1921), *Protoperidinium*, as well as the species *Scrippsiella trochoidea* (F.Stein) A.R.Loeblich 1976: 25. Among the coccolithophores, absolute dominance belonged to *Emiliania huxleyi*. Cryptophytes and small flagellated microalgae were also recorded in small numbers in the sample. After 3 days of incubation in the experimental microcosms of the control sample, the species composition of phytoplankton changed only slightly. A decrease in the contribution of large-celled diatoms *P. calcar-avis, P. alata, and Coscinodiscus*, as well as dinoflagellates of the genera *Ceratium* and *Protoperidinium*, was noted. By day 14, these species had completely disappeared, which is likely associated with a decline in the availability of mineral nutrients for the algae.

The addition of ZnO NPs led to a change in the species composition of the algocenosis with a restructuring of the structure of the dominant complexes. At the same time, the intensity of the observed effects increased with increasing concentration of ZnO NPs in the medium. At 10 and 20 µg/L ZnO NPs, the community abundance maintained a positive trend throughout the experiment. At the same time, a decrease in the abundance of mass planktonic species, an increase in the contribution of bentho-planktonic forms, and a change in the size structure of the algocenosis toward the predominance of small-celled species were

observed. At high concentrations of ZnO NPs of 30 and 60 μg/L, on 3^{d} days of the experiment, a pronounced decrease in species diversity was noted. An almost complete disappearance of dinoflagellates and planktonic chain-forming diatoms was noted. By the 14th day, the species composition of phytoplankton was represented by only a few species. Absolute dominance in the microcosms belonged to bentho-planktonic forms of diatoms of the genera *Licmophora*, *Navicula* and *Nitzschia*. In small numbers, the planktonic species *Pseudo-nitzschia delicatissima* (Cleve) Heiden 1928 and the coccolithophore *E. huxleyi* were recorded. Based on the obtained results, it can be concluded that the observed recovery of community growth at high concentrations of ZnO NPs occurs due to the growth of a limited number of tolerant species capable of withstanding a high level of toxic load.

4. Discussion

The data obtained in this work indicate that the acute toxic response of the phytoplankton community to high concentrations of ZnO nanoparticles is not irreversible. By the 8th day of the experiment, a recovery of the total abundance and photosynthetic activity of the algocenosis was observed, indicating the activation of adaptive mechanisms at both the population and community levels.The recovery can be explained by two groups of factors. Firstly, over time, aggregation, sedimentation, and transformation of the nanoparticles themselves occur in the culture medium, which reduces their toxic effect (Peng et al., 2011). Secondly, and this appears to be more significant, a directed restructuring of the species structure of the community takes place: sensitive forms are replaced by tolerant ones capable of withstanding high levels of toxic stress.

An analysis of the species composition of the experimental microcosms showed that the greatest resistance was exhibited by bentho-planktonic species, small-celled planktonic diatoms, and the coccolithophore *Emiliania huxleyi*. The revealed tolerance of these groups has a complex physiological and biochemical basis. The key defense mechanisms include: activation of the enzymatic antioxidant system that neutralizes reactive oxygen species induced by nanoparticles (Fazelian et al., 2019; Rezayian et al., 2019); production of extracellular polymeric substances that create a physical barrier and bind toxicants on the cell surface (Naveed et al., 2019; Chen et al., 2019); as well as structural features of the cell wall that determine its permeability to pollutants (Sendra et al., 2017). For bentho-planktonic forms, an additional protective factor is the abundant secretion of extracellular polysaccharides necessary for colonial existence (Moreno-Garrido et al., 2003). In *E. huxleyi*, calcium coccoliths appear to serve as a barrier, which is consistent with their previously described protective function under exposure to heavy metal ions (Solomonova et al., 2022).

Thus, the adaptive potential of the algocenosis is realized through a shift in dominants in favor of ecologically more plastic, but generally small-celled, forms. However, it is precisely this restructuring, which ensures the survival of the community under conditions of chronic pollution, that has profound ecological consequences, since it affects not only the taxonomic structure but also the functional organization of the entire pelagic community.

The key consequence of such restructuring is a reduction in the contribution of large-celled microalgae (e.g., *Coscinodiscus*, *Thalassiosira*) to the total phytoplankton biomass. This change is fundamentally important because large diatoms perform unique ecosystem functions that cannot be compensated by small-celled species. Firstly, large cells serve as preferred food for copepods—the main filter-feeders of zooplankton (Gosnell et al., 2021)—whereas small pico- and nanophytoplankton are inaccessible to them and are consumed primarily by microzooplankton, redirecting the energy flow into the microbial loop. In this case, a significant portion of organic carbon is lost through respiration, failing to reach higher trophic levels (Pomeroy and Wiebe, 1988; Wichard et al., 2007; Bulion, 2019). Secondly, large diatoms are the primary producers of long-chain polyunsaturated fatty acids, in particular eicosapentaenoic acid (EPA), which is critically important for the growth, development, and reproduction of zooplankton and juvenile fish (Taipale et al., 2020; Fenyova et al., 2022). A reduction in the biomass of large diatoms leads to a deficiency of these essential lipids in the ecosystem, which negatively affects the survival of higher-order consumers. Thus, the replacement of large-celled species by small forms triggers a trophic cascade, leading to the impoverishment of the food web and a decline in its productivity.

The recovery in total cell abundance observed in the experiment is not equivalent to the restoration of ecosystem structure and functions. As shown previously (Baert et al., 2016; Stockenreiter, 2025), a reduction in species diversity decreases the community's resistance to additional stressors and undermines its capacity for self-regulation. In our case, the simplification of species structure in favor of small-celled tolerant forms means that the community retains quantitative indicators but loses qualitative ones—the ability to maintain efficient energy transfer and essential lipid supply to higher trophic levels.

In summary, it can be concluded that the phytoplankton community demonstrates the ability for compensatory recovery of abundance after acute toxic stress caused by ZnO nanoparticles. However, this compensation is achieved at the cost of simplification of species structure, replacement of large forms by small ones, and depletion of functional diversity. The obtained results are consistent with a fundamental ecological principle: the resilience of dominant species does not guarantee the stability of the ecosystem, and quantitative recovery of biomass does not compensate for the qualitative degradation of the community. In the long term, such restructuring leads to a decrease in the buffer capacity of the ecosystem and its production potential, which must be taken into account when assessing the risks of chronic pollution of marine waters by metal nanoparticles.

5. Conclusion

The results demonstrate the complex nature of the phytoplankton community response to ZnO NPs contamination. Concentrations of 10 and 20 μg/L exert a moderate inhibitory effect on the phytoplankton community. Suppression of growth rate and photosynthetic activity, a decrease in the final algal abundance, and simplification of the species structure are noted. At the same time, the community abundance maintains a positive trend. ZnO NPs at concentrations of 30 and 60 μg/L exert an acute toxic effect on phytoplankton. However, the ability of the community for adaptive recovery due to restructuring of the species structure with the dominance of a small number of tolerant species capable of withstanding a high level of toxic load has been revealed. The ability of the community to survive under conditions of chronic contamination is achieved at the cost of simplification of its structure, which leads to a loss of stability and self-regulation and, in the long term, reduces the production potential of the ecosystem.

Acknowledgements

This work was carried out within the framework of IBSS state research assignment “Transformation of the structure and functions of marine pelagic ecosystems under the anthropogenic load and climate change” (No. 124030400057-4).

Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest.

Ethics Approval

This study does not require ethics committee approval because the organism under study is a microalga.

References

Baert J.M., De Laender F., Sabbe K. et al. 2016. Biodiversity increases functional and compositional resistance, but decreases resilience in phytoplankton communities. Ecology 97(12): 3433-3440. DOI: 10.1002/ecy.1601

Bulion V.V. 2019. Modeling of biotic energy flow in a lake-type ecosystem plankton community with the participation of microbial organisms. Biology of Inland Waters 3: 3-10. DOI: 10.1134/S032096521904003X

Chen F., Xiao Z., Yue L. et al. 2019. Algae response to engineered nanoparticles: current understanding, mechanisms and implications. Environmental Science: Nano 6(4): 1026-1042. DOI: 10.1039/C8EN01368C

Cherabier P., Ferriere R. 2022. Eco-evolutionary responses of the microbial loop to surface ocean warming and consequences for primary production. ISME Journal 16(4): 1130-1139. DOI: 10.1038/s41396-021-01166-8

Ebenman B.O., Law R., Borrvall C. et al. 2004. Community viability analysis: the response of ecological communities to species loss. Ecology 85(9): 2591-2600.

Fazelian N., Movafeghi A., Yousefzadi M. et al. 2019. Cytotoxic impacts of CuO nanoparticles on the marine microalga *Nannochloropsis oculata*. Environmental Science and Pollution Research 26(17): 17499-17511. DOI: 10.1007/s11356-019-05130-0

Fenyova I., Sakharova E., Krylov A. et al. 2022. Transfer of physiologically valuable substances from phytoplankton to zooplankton in freshwater bodies (review). Siberian Ecological Journal 4: 375-389.

Ghaffari M., Moztarzadeh F., Safavi M. et al. 2019. A comparative study on the shape-dependent biological activity of nanostructured zinc oxide. Ceramics International 45(1): 1179-1188. DOI: 10.1016/j.ceramint.2018.09.302

Gosnell K.J., Dam H.G., Mason R.P. et al. 2021. Mercury and methylmercury uptake and trophic transfer from marine diatoms to copepods and field collected zooplankton. Marine Environmental Research 170: 105446. DOI: 10.1016/j.marenvres.2021.105446

Grasshoff K., Kremling K., Ehrhardt M. et al. 1976. Methods of Seawater Analysis. Verlag Chemie, Weinheim, Germany.

Guiry M., Guiry G. 2025. AlgaeBase. World wide electronic publication. National University of Ireland Galway. URL: https://www.algaebase.org (Посещено: 10.06.2025).

Hald-Mortensen C. 2023. The main drivers of biodiversity loss: a brief overview. Journal of Ecology and Natural Resources 7(3): 000346.

Hou J., Wu Y., Li X. et al. 2018. Toxic effects of different types of zinc oxide nanoparticles on algae, plants, invertebrates, vertebrates and microorganisms. Chemosphere 193: 852-860. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2017.11.077

Identifying marine diatoms and dinoflagellate. 1996. In: Tomas C. R. (Ed.). San-Diego: Academic Press. DOI: 10.1016/B978-0-12-693015-3.X5000-1

Ingrisch J., Bahn M. 2018. Towards a comparable quantification of resilience. Trends in Ecology & Evolution 33(4): 251-259.

Ipatova V.I., Lazareva A.M. 2022. Concentration or dose of a toxicant in biotesting using microalgae. Bulletin of the Moscow Society of Naturalists. Biological Series 127(5): 54-65.

Ipatova V.I., Spirkina N.E., Dmitrieva A.G. et al. 2015. Resistance of microalgae to colloidal nanosilver. Russian Journal of Plant Physiology 62(2): 273-273.

Low-Décarie E., Kolber M., Homme P. et al. 2015. Community rescue in experimental metacommunities. Proceedings of the National Academy of Sciences 112(46): 14307-14312. DOI: 10.1073/pnas.1513125112

Manzo S., Miglietta M.L., Rametta G. et al. 2013. Toxic effects of ZnO nanoparticles towards marine algae *Dunaliella tertiolecta*. Science of the Total Environment 445: 371-376. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2012.12.051

Moreno-Garrido I., Hampel M., Lubián L.M. et al. 2003. Sediment toxicity tests using benthic marine microalgae *Cylindrotheca closterium* (Ehremberg) Lewin and Reimann (Bacillariophyceae). Ecotoxicology and Environmental Safety 54(3): 290-295. DOI: 10.1016/S0147-6513(02)00077-5

Morrissey C.A., Mineau P., Devries J.H. et al. 2015. Neonicotinoid contamination of global surface waters and associated risk to aquatic invertebrates: a review. Environment International 74: 291-303. DOI: 10.1016/j.envint.2014.10.024

Murchie E.H., Lawson T. 2013. Chlorophyll fluorescence analysis: a guide to good practice and understanding some new applications. Journal of Experimental Botany 64(13): 3983–3998. DOI: 10.1093/jxb/ert208

Naveed S., Li C., Lu X. et al. 2019. Microalgal extracellular polymeric substances and their interactions with metal(loid)s: A review. Critical Reviews in Environmental Science and Technology 49(19): 1769-1802. DOI: 10.1080/10643389.2019.1583052

Peng X., Palma S., Fisher N.S. et al. 2011. Effect of morphology of ZnO nanostructures on their toxicity to marine

algae. Aquatic Toxicology 102(3-4): 186-196. DOI: 10.1016/j.aquatox.2011.01.014

Pogosyan S.I., Gal'chuk S.V., Kazimirko Y.V. et al. 2009. The use of the fluorimeter "MEGA-25" to determine the amount of phytoplankton and assess the state of its photosynthetic apparatus. Water Chemistry and Ecology 6: 34-40.

Pomeroy L.R., Wiebe W.J. 1988. Energetics of microbial food webs. Hydrobiologia 159(1): 7-18. DOI: 10.1007/BF00007363

Rezayian M., Niknam V., Ebrahimzadeh H. et al. 2019. Stress response in cyanobacteria. Iranian Journal of Plant Physiology 9(3): 2773-2787.

Sendra M., Yeste P.M., Moreno-Garrido I. et al. 2017. CeO_2 NPs, toxic or protective to phytoplankton? Charge of nanoparticles and cell wall as factors which cause changes in cell complexity. Science of Total Environment 590: 304-315. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.03.007

Shoman N., Solomonova E., Akimov A. et al. 2024. Activation of stress reactions in the dinophyte microalga *Prorocentrum cordatum* as a consequence of the toxic effect of ZnO nanoparticles and zinc sulfate. Aquatic Toxicology 272: 106964. DOI: 10.1016/j.aquatox.2024.106964

Shoman N., Solomonova E., Akimov A. 2025. ZnO, CuO and TiO_2 nanoparticles impacts on natural phytoplankton community (in vitro). Environmental Science and Pollution Research 32: 21450-21462. DOI: 10.1007/s11356-025-36926-y

Solomonova E., Shoman N., Akimov A. et al. 2022. Differential responses of *Pleurochrysis* sp. (Haptophyta) to the effect of copper and light intensity. Functional Plant Biology 49(12): 1085-1094. DOI: 10.1071/FP22101

Stockenreiter M. 2025. Stay Connected to Be Diverse! Global Change Biology 31(1): e70046.

Suggett D.J., Moore C.M., Geider R.J. 2010. Estimating aquatic productivity from active fluorescence measurements. In: *Chlorophyll a fluorescence in aquatic sciences: methods and applications* (pp. 103–127) Dordrecht: Springer Netherlands. DOI: 10.1007/978-90-481-9268-7_6

Suman T.Y., Rajasree S.R.R., Kirubagaran R. et al. 2015. Evaluation of zinc oxide nanoparticles toxicity on marine algae *Chlorella vulgaris* through flow cytometric, cytotoxicity and oxidative stress analysis. Ecotoxicology and Environmental Safety 113: 23-30. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2014.11.015

Taipale S., Peltomaa E., Salmi P. et al. 2020. Variation in ω-3 and ω-6 polyunsaturated fatty acids produced by different phytoplankton taxa at early and late growth phase. Biomolecules 10(4): 559. DOI: 10.3390/biom10040559

Wang Y., Zhao Z., Song X. et al. 2025. Responses of coastal phytoplankton communities to herbicide exposure: enhanced resistance coupled with reduced resilience. Environmental Research 279: 121734. DOI: 10.1016/j.envres.2025.121734

Wichard T., Gerecht A., Boersma M. et al. 2007. Lipid and fatty acid composition of diatoms revisited: rapid wound-activated change of food quality parameters influences herbivorous copepod reproductive success. ChemBioChem 8(10): 1146-1153. DOI: 10.1002/cbic.200700053

Yang L., Mou S., Li H. et al. 2021. Terrestrial input of herbicides has significant impacts on phytoplankton and bacterioplankton communities in coastal waters. Limnology and Oceanography 66(11): 4028-4045.

Оригинальная статья

Долгосрочные эффекты воздействия наночастиц оксида цинка на осенний фитопланктон Черного моря

Шоман Н.Ю.*, Соломонова Е. С., Акимов А.И.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр "Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского Российской академии наук", Севастополь, Россия

АННОТАЦИЯ. Широкое применение наночастиц оксида цинка (ZnO НЧ) в хозяйственной деятельности человека делает актуальным вопрос оценки их влияния на окружающую среду. В представленной работе исследовалось влияния ZnO НЧ (10-60 мкг/л) на черноморский фитопланктон при длительном культивировании (17 суток) в условиях экспериментальных микрокосмов. Установлен дозозависимый эффект воздействия наночастиц на рост и функциональное состояние фитопланктона Черного моря в осенний период. Внесение ZnO НЧ приводило к ингибированию роста, фотосинтетической активности и снижению видового разнообразия фитопланктона. При 10 и 20 мкг/л ZnO НЧ численность сообщества сохраняла положительную динамику. Однако отмечено подавление скорости роста и снижение конечной численности водорослей до 60 и 21% от контрольных значений. При этом наблюдалось снижение численности массовых планктонных видов, увеличение вклада бенто-планктонных форм, изменение размерной структуры альгоценоза в сторону преобладания мелкоклеточных видов. При 30 и 60 мкг/л ZnO НЧ на начальном этапе эксперимента отмечалось развитие острого токсического стресса, угнетение фотосинтетической активности и деления клеток, снижение численности сообщества. Однако дальнейшее культивирование микрокосмов в этих условиях приводило к восстановлению роста сообщества за счет перестройки видовой структуры с последующим доминированием небольшого числа толерантных видов (преимущественно бенто-планктонные формы диатомовых водорослей, кокколитофориды *Emiliania huxleyi*), способных выдерживать высокий уровень токсической нагрузки. Таким образом, фитопланктонное сообщество способно восстанавливать свою численность и фотосинтетическую активность после острого токсического стресса. Однако способность сообщества выживать в условиях хронического загрязнения достигается ценой упрощения его структуры, что ведет к потере стабильности, саморегуляции и в перспективе снижает продукционный потенциал экосистемы.

Ключевые слова: фитопланктон, Черное море, поллютанты, наночастицы оксида цинка, адаптация

Для цитирования: Шоман Н.Ю., Соломонова Е. С., Акимов А.И. Долгосрочные эффекты воздействия наночастиц оксида цинка на осенний фитопланктон Черного моря // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - С. 537-553. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-537

1. Введение

Современная экология сталкивается с вызовом беспрецедентного сокращения биоразнообразия, вызванного комплексом антропогенных факторов (Hald-Mortensen, 2023). Снижение численности популяций и исчезновение видов ведут к деградации экосистемных функций, что ставит под угрозу стабильность природных сообществ. Однако в некоторых случаях биологические системы демонстрируют способность к сохранению жизнеспособности даже в условиях значительного внешнего воздействия (Ebenman et al., 2004). Сообщество способно избежать полного исчезновения в среде, изначально непригодной для ее существования, благодаря фенотипической пластичности или генетическим изменениям, повышающим толерантность к стрессору. Ключевым признаком такой адаптации служит переход от сокращения численности к устойчивому росту при сохранении неблагоприятных

*Автор для переписки. Адрес e-mail: n-zaichencko@yandex.ru (Н.Ю. Шоман)

Поступила: 02 июня 2026;
Принята после доработки: 07 августа 2026;
Опубликована online: 28 августа 2026

© Автор(ы) 2026. Эта работа распространяется под международной лицензией Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.

условий среды (Ипатова и др., 2015; Morrissey et al., 2015; Yang et al., 2021; Ипатова и Лазарева, 2022).

Механизмы адаптации к неблагоприятным условиям роста на уровне отдельных видов достаточно хорошо изучены (Low-Décarie et al., 2015; Wang et al., 2025). В то время как механизмы, обеспечивающие выживание многовидовых сообществ, исследованы слабо. Согласно литературным данным, ключевыми факторами, повышающими вероятность адаптации к стрессовым условиям, служат высокая исходная численность популяции (Low-Décarie et al., 2015; Cherabier and Ferriere, 2022) и предшествующая адаптация к сублетальным концентрациям загрязнителя (Shoman et al., 2024; 2025). Первый фактор снижает риск стохастической гибели в критический период снижения численности, второй — способствует накоплению устойчивых генотипов и фенотипов, подготавливая популяцию к неблагоприятному воздействию в будущем.

В контексте современных экологических угроз особое внимание привлекают наночастицы оксида цинка (ZnO НЧ), широко используемые в промышленности и потребительских товарах (Hou et al., 2018b; Ghaffari et al., 2019). Попадая в водную среду, эти частицы оказывают токсическое действие как за счет выделения ионов цинка, так и вследствие прямого контакта с клетками водорослей, вызывая окислительный стресс и повреждение мембран (Manzo et al., 2013; Suman et al., 2015; Shoman et al., 2024). Черноморский бассейн подвержен значительной антропогенной нагрузке, и фитопланктонные сообщества Черного моря, отличающиеся высоким видовым разнообразием, являются чувствительным индикатором подобных загрязнений.

Важно отметить, что стандартные краткосрочные экотоксикологические тесты (72–96 часов) фиксируют лишь острую токсичность и немедленную реакцию вида/сообщества на стресс. Они не позволяют оценить долгосрочные процессы адаптации, смены доминирующих видов или эволюционные изменения, которые требуют времени. Оценка адаптивного потенциала сообщества возможна лишь в условиях длительного эксперимента, поскольку процессы перестройки видовой структуры в пользу толерантных форм, закрепления полезных мутаций и активации защитных физиологических механизмов требуют времени (Ingrisch and Bahn, 2018). Учет временного фактора приближает лабораторные модели к реальным сценариям хронического загрязнения, где процессы адаптации играют ключевую роль.

В связи с этим целью настоящей работы являлась оценка долгосрочного адаптационного отклика черноморского фитопланктона на воздействие наночастиц оксида цинка разной концентрации. Длительный эксперимент позволит охарактеризовать изменения численности, фотосинтетической активности и видовой структуры сообщества в зависимости от уровня токсической нагрузки и определить диапазон условий, в котором сохраняется устойчивость сообщества к данному воздействию.

2. Материалы и методика исследований

2.1. Отбор и первичная обработка проб

Пробы морской воды отбирали из поверхностного слоя на станции, расположенной на севастопольском взморье между бухтами Карантинная и Севастопольская (Севастополь, Черное море, 44°38′ с.ш., 33°33′ в.д.) в октябре 2025 года. Отбор проб проводили в 10-литровый поликарбонатный бак. Фитопланктонное сообщество в октябре характеризуется большим видовым разнообразием, что обусловливает выбор данного периода в качестве наиболее благоприятного для постановки модельных токсикологических экспериментов. Температура воды в момент отбора проб составляла 18°C. Интенсивность фотосинтетически активной радиации (ФАР), достигающей поверхности моря, составляла 31 ± 2 Э $м^{-2}$ $день^{-1}$. Значения ФАР получены из спутниковых наблюдений, взятых из https://oceandata.sci.gsfc.nasa.gov. Концентрации неорганического азота и фосфора в воде составляли 2.4 ± 0.29 мкмоль/л и 0.42 ± 0.03 мкмоль/л соответственно. Содержание неорганических соединений азота ($NO_3^{2-} + NH^{4+}$) и фосфора (PO_4^{2-}) определяли по методикам, подробно описанным в (Grasshoff et al., 1976) (приведённые данные представлены исключительно для характеристики исходных гидрохимических условий в месте отбора проб и не являются предметом углублённого анализа в настоящей работе). Сразу после отбора образцы морской воды доставляли в лабораторию, где фильтровали через нейлоновый фильтр (300 мкм) для удаления мезозоопланктона. После этого проводили первичный анализ проб: определение численности клеток, функционального состояния фотосинтетического аппарата, методом PAM флуориметрии и видового состава фитопланктона.

2.2. Токсикологический тест

В качестве токсиканта ZnO НЧ (Sigma-Aldrich; чистота $\geq 99.8\%$, США). Рабочие растворы готовили диспергированием наночастиц в деионизированной воде. Непосредственно перед использованием для достижения гомогенной дисперсии растворы обрабатывали ультразвуком в течение одного часа в ультразвуковой ванне «Sapphire» (Китай). Наночастицы имели сферическую форму, средний размер составлял 84 нм (диапазон – 54–117 нм). Детальное описание характеристик ZnO НЧ, включая данные электронной микроскопии и ЭДС-анализа, а также процедуру приготовления исходных растворов, было опубликовано ранее (Shoman et al., 2024).

Токсикологический тест проводился путем создания искусственных модельных микрокосмов альгоценоза. Для этого исследуемую отфильтрованную морскую воду переносили в стеклянные колбы объемом 250 мл и добавляли растворы токсикантов в концентрации 10, 20, 30 и 60 мкг/л. Номинальные концентрации токсикантов были выбраны на основании результатов собственных предварительных

исследований об их токсическом влиянии на фитопланктон (Shoman et al., 2025). Образцы без добавления токсикантов были использованы в качестве контроля. После добавления токсикантов экспериментальные микрокосмы культивировали в накопительном режиме в течение 17 суток, что позволило оценить долгосрочные эффекты воздействия НЧ на сообщество фитопланктона. Инкубацию микрокосмов проводили внутри холодильной витрины, оборудованной светодиодным источником света. В ходе эксперимента в камере поддерживалась температура 18ºС, освещенность 31 Э $м^{-2}$ $сут^{-1}$, свето-темновой режим 11:13 ч. Добавки питательной среды не вносились. Заданные абиотические условия были аналогичны зафиксированным на момент отбора проб воды. Каждый вариант эксперимента дублировался в 3 повторностях. Пробы для цитометрического и PAM-флуориметрического анализа отбирались на протяжении всего эксперимента ежесуточно, за исключением выходных дней. Определение доминирующих видов микроводорослей проводили на 3 и 14 сутки после внесения токсикантов. Первая временна́я точка (72 ч) является стандартной для экотоксикологических исследований и рекомендована для оценки острой токсичности поллютантов. Вторая точка (14 сут) выбрана на основании предварительного анализа динамики роста: именно к данному сроку в экспериментальных вариантах с добавлением токсиканта фиксируется фаза восстановления популяционной численности (подробно см. раздел «Результаты»), что позволяет охарактеризовать долгосрочные последствия воздействия и резистентность черноморского фитопланктона.

2.3. Аналитические методы.

Численность фитопланктона определяли с помощью проточного цитометра MACS Quant Analyzer flow cytometer (Miltenyi Biotec, Germany), расположенного в Центре коллективного пользования «Спектрометрия и хроматография» ФИЦ ИнБЮМ. Сообщество фитопланктона выделяли методом гейтинга на двумерных цитограммах, построенных в безразмерных логарифмических шкалах, по прямому светорассеянию (FS) и автофлуоресценции хлорофилла в красной области спектра (канал FL4, 675 нм). Для обработки данных использовали программное обеспечение FSC Express 7 Research Edition.

Для определения доминирующих видов микроводорослей в исходной пробе фитопланктона (сразу после отбора) воду сгущали методом обратной фильтрации через фильтры Whatman GF/C с диаметром пор 1.2 мкм. В ходе эксперимента (на 3-и и 14-е сутки) из тщательно перемешанных экспериментальных образцов отбирали аликвоту и осаждали клетки центрифугированием при 1000 об./мин. Полученный осадок микроскопировали. Доминирующие виды идентифицировали с использованием микроскопа Mikmed-6 (LOMO, Россия) с увеличением $\times 1000$, оснащенного цифровой камерой MS-8.3C (LOMO, Россия) и программным обеспечением MCVeiw (LOMO-Microsystems, Россия). Идентификацию видов проводили с использованием определителей (Identifying..., 1996) и интернет-ресурса AlgaeBase (Guiry and Guiry, 2025).

Измерение флуоресценции пигментного комплекса водорослей проводили на флуориметре «Мега–25м» с импульсной модуляцией возбуждающего света на длине волны 455 нм (ООО «Генная и клеточная терапия», Россия) (Pogosyan et al., 2009). Определение всех флуоресцентных параметров проводили в красной области спектра на длине волны 680 нм. Перед измерением пробы выдерживали 15 минут в темноте. После периода темновой адаптации измеряли параметры *Fo* и *Fm*, где *Fo* – величина флуоресценции хлорофилла *a* при открытых реакционных центрах, измеренная через 2,5 мкс от начала облучения с интенсивностью 5000 мкмоль фотон/($м^2$ с) (частота импульсов 16 Гц); *Fm* – максимальная флуоресценция хлорофилла *a* при закрытых реакционных центрах, измеренная через 1 с от начала облучения с интенсивностью 5000 мкмоль фотон/($м^2$ с) (частота импульсов 80 Гц).

Относительную вариабельную флуоресценцию (*Fv/Fm*), характеризующую максимальную квантовую эффективность использования световой энергии, рассчитывали по формуле:

$$\frac{Fv}{Fm} = \frac{Fm - Fo}{Fm},$$

Величину *rETR* при определенной интенсивности постоянного света I рассчитывали по формуле:

$$rETR = \frac{Fm' - Fo'}{Fm'} \cdot I \cdot 0.002,$$

где *Fm*’ – максимальный выход флуоресценции хлорофилла *a* в условиях постоянного освещения; *Fo*’ – минимальный выход флуоресценции хлорофилла *a* в условиях постоянного освещения; 0.002 – инструментальный коэффициент флуорометра Mega-25m.

Статистическая обработка данных выполнялась с использованием стандартных программных пакетов «Microsoft Excel 7.0» (Microsoft Office), «Grapher-16» (Golden Software). Значения, представленные на графиках и в таблице, представляют собой среднее арифметическое трех измерений. Планки погрешностей обозначают стандартные отклонения описанных значений. Достоверность различий между выборками оценивали с помощью критерия Тьюки (Tukey HSD test) при уровне значимости $p < 0.05$.

3. Результаты

3.1. Влияние ZnO НЧ на динамику численности и фотосинтетическую активность фитопланктона

Проанализирована динамика численности фитопланктонного сообщества при длительном культивировании в зависимости от концентрации наночастиц оксида цинка. Полученные дан-

ные демонстрируют выраженный дозозависимый эффект воздействия наночастиц на рост и развитие микроводорослей. В пробах без ZnO НЧ наблюдалась типичная кривая роста микроводорослей от логарифмической до стационарной фазы с закономерным увеличением численности от 1.53 до 24.68 тыс. клеток/мл (Рис. 1). Полученная кривая роста свидетельствует об отсутствии дополнительных лимитирующих факторов в условиях культивирования, что позволяет использовать ее в качестве контроля.

Внесение ZnO НЧ приводило к замедлению роста фитопланктона, при этом выраженность токсического эффекта усиливалась при увеличении концентрации поллютанта. При 10 и 20 мкг/л ZnO НЧ численность сообщества сохраняла положительную динамику на протяжении всего эксперимента (Рис. 1а). Однако отмечено подавление скорости роста и снижение конечной численности водорослей, которая к 17 суткам составляла 60 и 21% от контрольных значений. При высоких концентрациях ZnO НЧ 30 и 60 мкг/л до 10 суток эксперимента отмечалось развитие острого токсического стресса, критическое угнетение деления клеток и снижение численности сообщества до 0.9 и 0.48 тыс. кл./мл соответственно. Однако дальнейшее культивирование микрокосмов в этих условиях приводило к восстановлению роста сообщества. При 30 мкг/л рост числа клеток зарегистрирован с 11 суток эксперимента, а к 17 суткам конечная численность сообщества достигла 2.1 тыс. клеток/мл (Рис. 1б). При 60 мкг/л фаза восстановления роста наступила на 14 сутки культивирования, к концу эксперимента численность клеток составила 0.84 тыс. кл./мл (Рис. 1в).

Анализ изменчивости флуоресцентных параметров Fv/Fm и rETR позволил получить комплексное представление о функционировании фотосинтетического аппарата фитопланктона в условиях хронического загрязнения ZnO НЧ. Результаты представлены на Рис. 2 и 3. Показатель Fv/Fm отражает максимальную квантовую эффективность фотосистемы II, характеризует потенциальные возможности светособирающего комплекса и реакционных центров. В свою очередь относительная скорость транспорта электронов (rETR) демонстрирует реальную функциональную активность электрон-транспортной цепи и сопряженность работы двух фотосистем (Suggett et al., 2010; Murchie and Lawson, 2013). В контрольном образце оба параметра сохраняли стабильно высокие значения на протяжении практически всего эксперимента (Fv/Fm = 0.60–0.64; rETR = 0.17–0.20 отн. ед.), что свидетельствует о сбалансированной и эффективной работе фотосинтетического аппарата водорослей. Снижение значений показателей на 15-17 сутки указывает на исчерпание минерального питания в среде и переход в стационарную фазу роста.

Внесение ZnO НЧ вызывало дозозависимое ингибирование фотосинтетической активности водорослей. При этом оба исследуемых параметра демонстрировали согласованную динамику снижения. Наиболее выраженное ингибирование фотосинтетической активности клеток наблюдалось при 30 и 60 мкг/л ZnO НЧ. На 7-8 сутки эксперимента значения Fv/Fm снижались до 0.44–0.45 и 0.40, а rETR до 0.11–0.12 и 0.10 соответственно, что указывает на повреждение реакционных центров фотосистемы II и нарушение транспорта электронов. Однако при дальнейшем культивировании микрокосмов в этих условиях фотосинтетическая активность фитопланктона восстанавливалась. При 30 мкг/л достоверное повышение значений Fv/Fm и rETR отмечено с 9 суток эксперимента. К 14 суткам значения парметров достигали 0.60 и 0.15 соответственно, что свидетельствует о практически полном функциональном восстановлении фотосинтетического аппарата (Рис. 2б, 3б). При 60 мкг/л ZnO НЧ восстановление обоих параметров зафиксировано с 14 суток. К концу эксперимента показатель кван-

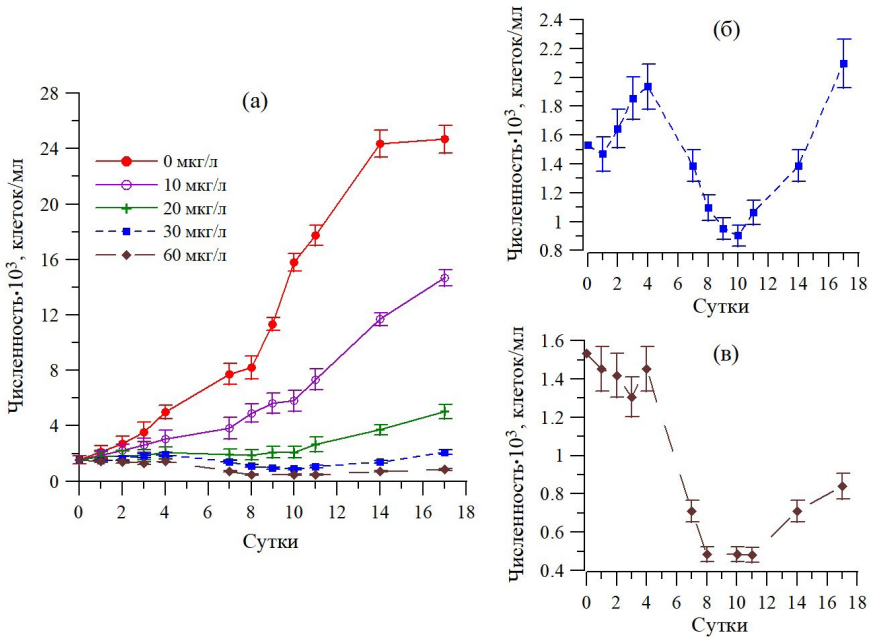


Рис.1. Влияние ZnO НЧ на численность фитопланктона в экспериментальных микрокосмах при длительном культивировании (а). Динамика восстановления численности сообщества при 30 (б) и 60 (в) мкг/л ZnO НЧ.

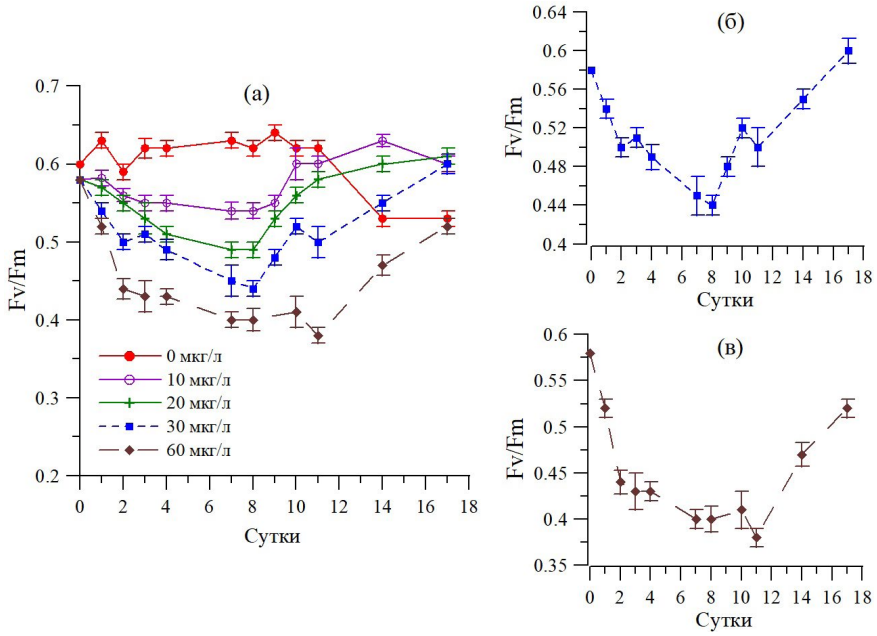


Рис.2. Влияние ZnO НЧ на максимальную квантовую эффективность фотосинтеза (Fv/Fm) фитопланктона в экспериментальных микрокосмах при длительном культивировании (а). Динамика восстановления Fv/Fm при 30 (б) и 60 (в) мкг/л ZnO НЧ.

товой эффективности фотосинтеза повысился до 0.52, а rETR до 0.13, демонстрируя положительную динамику фотосинтетической активности, хотя и не достигшую контрольных значений (Рис. 2c, 3c). Синхронное восстановление Fv/Fm и rETR указывает на то, что адаптационные процессы затрагивают как структурную целостность фотосистемы II, так и функциональную активность электрон-транспортной цепи. Таким образом, при длительном культивировании в среде с высоким содержанием ZnO НЧ фотосинтетическая активность фитопланктона проходит две последовательные стадии. Первая – фаза острого токсического стресса, которая сопровождается ингибированием первичных фотохимических процессов и транспорта электронов. Вторая – фаза адаптационного восстановления, характеризующаяся постепенной реактивацией фотосистемы II и возобновлением функциональной активности электрон-транспортной цепи. В совокупности эти процессы обеспечивают выживание популяции в условиях хронического загрязнения.

3.2. Влияние ZnO НЧ на видовой состав сообщества фитопланктона

В исходной пробе отмечено значительное видовое разнообразие фитопланктона с преобладанием диатомовых (69%), динофитовых водорослей (20%) и кокколитофориды *Emiliania huxleyi* (Lohmann) W.W. Hay & H. Mohler 1967 (9%). Среди диатомовых в большом количестве регистрирова-

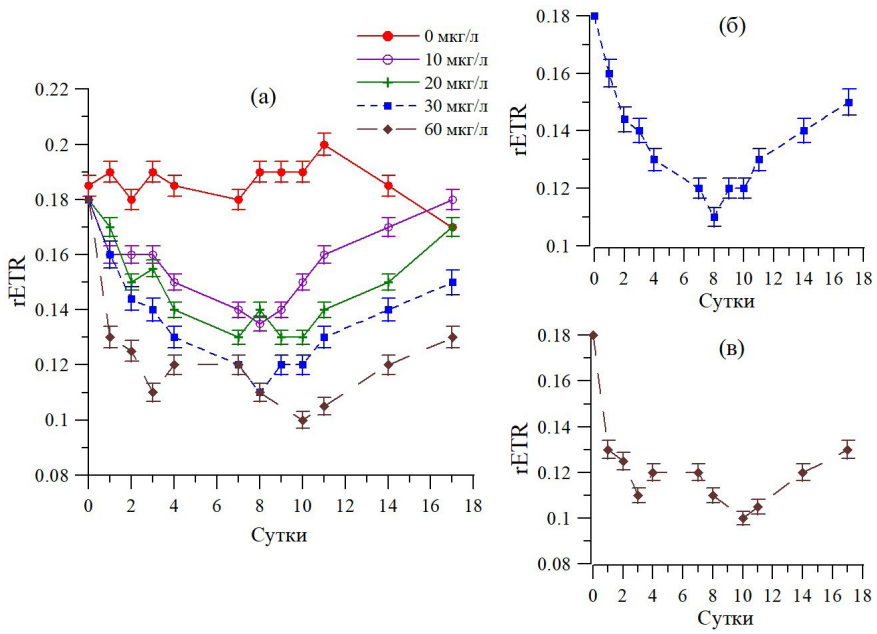


Рис.3. Влияние ZnO НЧ на относительную скорость электронного транспорта (rETR) фитопланктона в экспериментальных микрокосмах при длительном культивировании (а). Динамика восстановления rETR при 30 (б) и 60 (в) мкг/л ZnO НЧ.

лись крупноклеточные виды *Pseudosolenia calcar-avis* (Schultze) B.G. Sundström 1986 и *Proboscia alata* (Brightwell) Sundström 1986, а также представители родов *Chaetoceros* Ehrenberg, 1844*, Thalassiosionema* Proshkina-Lavrenko 1955*, Thalassiosira* Proshkina-Lavrenko 1955*, Cyclotella* Grunow 1878*, Cerataulina* (Cleve) Hendey 1937*, Nitzschia*, *Coscinodiscus* A. Grunow, 1883. Кроме того отмечено массовое развитие бенто-планктонных видов *Cylindrotheca closterium* (Ehrenberg) Reimann & J.C.Lewin, 1964*, Nitzschia longissima* (Brébisson ex Kützing) Grunow 1862*, Nitzschia tenuirostris* Manguin 1952 и представителей родов *Licmophora* C. Agardh, 1827*, Navicula* Bory, 1822*, Tabillaria, Striatella* C.Agardh, 1832. Динофитовые водоросли также демонстрировали значительное таксономическое разнообразие. Наиболее многочисленными были представители родов *Prorocentrum* (преимущественно *P. cordatum* (Ostenfeld) J.D.Dodge 1976), *Ceratium* F.Schrank, 1793 (преимущественно *C. furca* (Ehrenberg) Vanhoeffen 1897*, C. fusus* (Ehrenberg) Dujardin 1841*, C. tripos (*O.F.Müller) Nitzsch 1817), *Gymnodinium* F.Stein, 1878 (преимущественно *G. Simplex (*Lohmann) Kofoid и Swezy, 1921*, G. wulffii* J.Schiller 1932*), Glenodinium, Gyrodinium* (преимущественно *G. Fusiforme* Kofoid и Swezy 1921), *Protoperidinium*, а также вид *Scrippsiella trochoidea* (F.Stein) A.R.Loeblich 1976: 25. Среди кокколитофорид абсолютное доминирование принадлежало виду *Emiliania huxleyi.* Также в небольшом количестве в пробе регистрировались криптофитовые и мелкие жгутиковые микроводоросли. Через 3 суток инкубации в экспериментальных микрокосмах контрольного образца видовой состав фитопланктона менялся незначительно. Отмечено снижение вклада крупноклеточных диатомовых *P. calcaravis*, *P. alata* и *Coscinodiscus* и динофитовых родов *Ceratium* и *Protoperidinium*. На 14 сутки данные виды полностью исчезали, что, вероятно, связано со снижением обеспеченности водорослей минеральным питанием.

Добавление ZnO НЧ приводило к изменению видового состава альгоценоза с перестройкой структуры доминирующих комплексов. При этом интенсивность наблюдаемых эффектов усиливалась при повышении концентрации ZnO НЧ в среде. При 10 и 20 мкг/л ZnO НЧ численность сообщества сохраняла положительную динамику на протяжении всего эксперимента. При этом наблюдалось снижение численности массовых планктонных видов, увеличение вклада бенто-планктонных форм, изменение размерной структуры альгоценоза в сторону преобладания мелкоклеточных видов. При высоких концентрациях ZnO НЧ 30 и 60 мкг/л на 3 сутки эксперимента отмечено выраженное снижение видового разнообразия. Отмечено практически полное исчезновение динофитовых водорослей и планктонных цепочечных диатомей. К 14 суткам видовой состав фитопланктона был представлен всего несколькими видами. Абсолютное доминирование в микрокосмах принадлежало бенто-планктонным формам диатомовых водорослей родов *Licmophora*, *Navicula и Nitzschia.* В небольшом количестве регистрировались планктонные виды *Pseudo-nitzschia delicatissima* (Cleve) Heiden 1928 и кокколитофорида *E. huxleyi.* На основании полученных результатов можно сделать вывод, что наблюдаемое восстановление роста сообщества при высоких концентрациях ZnO НЧ происходит за счет роста ограниченного числа толерантных видов, способных выдерживать высокий уровень токсической нагрузки.

4. Обсуждение

Полученные в работе данные свидетельствуют о том, что острая токсическая реакция фитопланктонного сообщества на высокие концентрации ZnO наночастиц не является необратимой. К 8-м суткам эксперимента наблюдалось восстановление общей численности и фотосинтетической активности альгоценоза, что указывает на запуск адаптационных механизмов как на популяционном, так и на сообщественном уровне.

Восстановление может быть объяснено двумя группами факторов. Во-первых, с течением времени происходит агрегация, осаждение и трансформация самих наночастиц в культуральной среде, что снижает их токсический эффект (Peng et al., 2011). Во-вторых, и это представляется более значимым, происходит направленная перестройка видовой структуры сообщества: чувствительные формы замещаются толерантными, способными выдерживать высокий уровень токсической нагрузки.

Анализ видового состава экспериментальных микрокосмов показал, что наибольшей устойчивостью обладали бенто-планктонные виды, мелкоклеточные планктонные диатомеи и кокколитофорида *Emiliania huxleyi*. Выявленная толерантность данных групп имеет комплексную физиолого-биохимическую основу. К ключевым механизмам защиты относятся: активация ферментативной антиоксидантной системы, нейтрализующей активные формы кислорода, индуцируемые наночастицами (Fazelian et al., 2019; Rezayian et al., 2019); продукция внеклеточных полимерных веществ, создающих физический барьер и связывающих токсиканты на поверхности клетки (Naveed et al., 2019; Chen et al., 2019); а также структурные особенности клеточной оболочки, определяющие её проницаемость для поллютантов (Sendra et al., 2017). Для бенто-планктонных форм дополнительным фактором защиты служит обильное выделение внеклеточных полисахаридов, необходимых для колониального существования (Moreno-Garrido et al., 2003). У *E. huxleyi* роль барьера, по-видимому, выполняют кальциевые кокколиты, что согласуется с ранее описанной их защитной функцией при воздействии ионов тяжёлых металлов (Solomonova et al., 2022).

Таким образом, адаптационный потенциал альгоценоза реализуется через смену доминантов в пользу экологически более пластичных, но, как правило, мелкоклеточных форм. Однако именно эта перестройка, обеспечивающая выживание сообщества в условиях хронического загрязнения, имеет глубокие экологические последствия, поскольку

затрагивает не только таксономическую структуру, но и функциональную организацию всего пелагического сообщества.

Ключевое последствие такой перестройки — снижение вклада крупноклеточных микроводорослей (например, *Coscinodiscus*, *Thalassiosira*) в общую биомассу фитопланктона. Это изменение принципиально важно, поскольку крупные диатомеи выполняют уникальные экосистемные функции, которые не могут быть компенсированы мелкоклеточными видами. Во-первых, крупные клетки служат предпочтительной пищей для копепод — основных фильтраторов зоопланктона (Gosnell et al., 2021), тогда как мелкий пико- и нанофитопланктон недоступен для них и потребляется преимущественно микрозоопланктоном, переключая поток энергии в микробную петлю. В этом случае значительная часть органического углерода теряется на дыхание, не достигая высших трофических уровней (Pomeroy and Wiebe, 1988; Wichard et al., 2007; Бульон, 2019). Во-вторых, крупные диатомеи являются основными продуцентами длинноцепочечных полиненасыщенных жирных кислот, в частности эйкозапентаеновой кислоты (EPA), которая критически важна для роста, развития и репродукции зоопланктона и молоди рыб (Taipale et al., 2020; Фенёва и др., 2022). Снижение биомассы крупных диатомей ведёт к дефициту этих эссенциальных липидов в экосистеме, что негативно сказывается на выживаемости консументов высших порядков. Таким образом, замещение крупноклеточных видов мелкими формами запускает трофический каскад, приводящий к обеднению пищевой сети и снижению её продуктивности.

Восстановление общей численности клеток, наблюдаемое в эксперименте, не эквивалентно восстановлению структуры и функций экосистемы. Как показано ранее (Baert et al., 2016; Stockenreiter, 2025), сокращение видового разнообразия снижает устойчивость сообщества к дополнительным стрессорам и подрывает его способность к саморегуляции. В нашем случае упрощение видовой структуры в пользу мелкоклеточных толерантных форм означает, что сообщество сохраняет количественные показатели, но утрачивает качественные — способность поддерживать эффективный перенос энергии и эссенциальных липидов на высшие трофические уровни.

Резюмируя, можно заключить, что фитопланктонное сообщество демонстрирует способность к компенсаторному восстановлению численности после острого токсического стресса, вызванного ZnO наночастицами. Однако эта компенсация достигается ценой упрощения видовой структуры, замещения крупных форм мелкими и обеднения функционального разнообразия. Полученные результаты согласуются с фундаментальным экологическим принципом: устойчивость доминирующих видов не гарантирует стабильности экосистемы, а количественное восстановление биомассы не компенсирует качественной деградации сообщества. В долгосрочной перспективе такая перестройка ведёт к снижению буферной ёмкости экосистемы и её продукционного потенциала, что необходимо учитывать при оценке рисков хронического загрязнения морских вод наночастицами металлов.

5. Заключение

Полученные результаты демонстрируют сложный характер ответа фитопланктонного сообщества на загрязнение ZnO НЧ. Концентрации 10 и 20 мкг/л оказывают умеренное ингибирующее действие на фитопланктонное сообщество. Отмечено подавление скорости роста и фотосинтетической активности, снижение конечной численности водорослей, упрощение видовой структуры. При этом численность сообщества сохраняет положительную динамику. ZnO НЧ в концентрации 30 и 60 мкг/л оказывают острое токсическое действие на фитопланктон. Однако выявлена способность сообщества к адаптационному восстановлению за счет перестройки видовой структуры с доминированием небольшого числа толерантных видов, способных выдерживать высокий уровень токсической нагрузки. Способность сообщества выживать в условиях хронического загрязнения достигается ценой упрощения его структуры, что ведет к потере стабильности, саморегуляции и в перспективе снижает продукционный потенциал экосистемы.

Благодарности

Работа выполнена в рамках государственного задания ФИЦ ИнБЮМ по теме «Трансформация структуры и функций экосистем морской пелагиали в условиях антропогенного воздействия и изменения климата» (№ гос. регистрации 124030400057-4).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм

Настоящее исследование не требует одобрения этического комитета, поскольку изучаемыми организмами являются микроводоросли.

Список литературы

Бульон В.В. 2019. Моделирование биотического потока энергии в планктонном сообществе экосистемы озерного типа при участии микробиальных организмов. Биология внутренних вод 3: 3-10. DOI: 10.1134/S032096521904003X

Ипатова В.И., Лазарева А.М. 2022. Концентрация или доза токсиканта в биотестировании с использованием микроводорослей. Бюллетень Московского общества испытателей природы. Отдел биологический 127(5): 54-65.

Ипатова В.И., Спиркина Н.Е., Дмитриева А.Г. и др. 2015. Устойчивость микроводорослей к коллоидному наносеребру. Физиология растений 62(2): 273-273.

Фенёва И., Сахарова Е., Крылов А. и др. 2022. Передача физиологически ценных веществ от фитопланктона к зоопланктону в пресноводных водоемах (обзор). Сибирский экологический журнал 4: 375-389.

Baert J.M., De Laender F., Sabbe K. et al. 2016. Biodiversity increases functional and compositional resistance, but decreases resilience in phytoplankton communities. Ecology 97(12): 3433-3440. DOI: 10.1002/ecy.1601

Chen F., Xiao Z., Yue L. et al. 2019. Algae response to engineered nanoparticles: current understanding, mechanisms and implications. Environmental Science: Nano 6(4): 1026-1042. DOI: 10.1039/C8EN01368C

Cherabier P., Ferriere R. 2022. Eco-evolutionary responses of the microbial loop to surface ocean warming and consequences for primary production. ISME Journal 16(4): 1130-1139. DOI: 10.1038/s41396-021-01166-8

Ebenman B.O., Law R., Borrvall C. et al. 2004. Community viability analysis: the response of ecological communities to species loss. Ecology 85(9): 2591-2600.

Fazelian N., Movafeghi A., Yousefzadi M. et al. 2019. Cytotoxic impacts of CuO nanoparticles on the marine microalga *Nannochloropsis oculata*. Environmental Science and Pollution Research 26(17): 17499-17511. DOI: 10.1007/s11356-019-05130-0

Ghaffari M., Moztarzadeh F., Safavi M. et al. 2019. A comparative study on the shape-dependent biological activity of nanostructured zinc oxide. Ceramics International 45(1): 1179-1188. DOI: 10.1016/j.ceramint.2018.09.302

Gosnell K.J., Dam H.G., Mason R.P. et al. 2021. Mercury and methylmercury uptake and trophic transfer from marine diatoms to copepods and field collected zooplankton. Marine Environmental Research 170: 105446. DOI: 10.1016/j.marenvres.2021.105446

Grasshoff K., Kremling K., Ehrhardt M. et al. 1976. Methods of Seawater Analysis. Verlag Chemie, Weinheim, Germany.

Guiry M., Guiry G. 2025. AlgaeBase. World wide electronic publication. National University of Ireland Galway. URL: https://www.algaebase.org (Посещено: 10.06.2025).

Hald-Mortensen C. 2023. The main drivers of biodiversity loss: a brief overview. Journal of Ecology and Natural Resources 7(3): 000346.

Hou J., Wu Y., Li X. et al. 2018. Toxic effects of different types of zinc oxide nanoparticles on algae, plants, invertebrates, vertebrates and microorganisms. Chemosphere 193: 852-860. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2017.11.077

Identifying marine diatoms and dinoflagellate. 1996. In: Tomas C. R. (Ed.). San-Diego: Academic Press. DOI: 10.1016/B978-0-12-693015-3.X5000-1

Ingrisch J., Bahn M. 2018. Towards a comparable quantification of resilience. Trends in Ecology & Evolution 33(4): 251-259.

Low-Décarie E., Kolber M., Homme P. et al. 2015. Community rescue in experimental metacommunities. Proceedings of the National Academy of Sciences 112(46): 14307-14312. DOI: 10.1073/pnas.1513125112

Manzo S., Miglietta M.L., Rametta G. et al. 2013. Toxic effects of ZnO nanoparticles towards marine algae *Dunaliella tertiolecta*. Science of the Total Environment 445: 371-376. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2012.12.051

Moreno-Garrido I., Hampel M., Lubián L.M. et al. 2003. Sediment toxicity tests using benthic marine microalgae *Cylindrotheca closterium* (Ehremberg) Lewin and Reimann (Bacillariophyceae). Ecotoxicology and Environmental Safety 54(3): 290-295. DOI: 10.1016/S0147-6513(02)00077-5

Morrissey C.A., Mineau P., Devries J.H. et al. 2015. Neonicotinoid contamination of global surface waters and associated risk to aquatic invertebrates: a review. Environment International 74: 291-303. DOI: 10.1016/j.envint.2014.10.024

Murchie E.H., Lawson T. 2013. Chlorophyll fluorescence analysis: a guide to good practice and understanding some new applications. Journal of Experimental Botany 64(13): 3983–3998. DOI: 10.1093/jxb/ert208

Naveed S., Li C., Lu X. et al. 2019. Microalgal extracellular polymeric substances and their interactions with metal(loid)s: A review. Critical Reviews in Environmental Science and Technology 49(19): 1769-1802. DOI: 10.1080/10643389.2019.1583052

Peng X., Palma S., Fisher N.S. et al. 2011. Effect of morphology of ZnO nanostructures on their toxicity to marine algae. Aquatic Toxicology 102(3-4): 186-196. DOI: 10.1016/j.aquatox.2011.01.014

Pogosyan S.I., Gal'chuk S.V., Kazimirko Y.V. et al. 2009. The use of the fluorimeter "MEGA-25" to determine the amount of phytoplankton and assess the state of its photosynthetic apparatus. Water Chemistry and Ecology 6: 34-40.

Pomeroy L.R., Wiebe W.J. 1988. Energetics of microbial food webs. Hydrobiologia 159(1): 7-18. DOI: 10.1007/BF00007363

Rezayian M., Niknam V., Ebrahimzadeh H. et al. 2019. Stress response in cyanobacteria. Iranian Journal of Plant Physiology 9(3): 2773-2787.

Sendra M., Yeste P.M., Moreno-Garrido I. et al. 2017. CeO_2 НЧ, toxic or protective to phytoplankton? Charge of nanoparticles and cell wall as factors which cause changes in cell complexity. Science of Total Environment 590: 304-315. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.03.007

Shoman N., Solomonova E., Akimov A. et al. 2024. Activation of stress reactions in the dinophyte microalga *Prorocentrum cordatum* as a consequence of the toxic effect of ZnO nanoparticles and zinc sulfate. Aquatic Toxicology 272: 106964. DOI: 10.1016/j.aquatox.2024.106964

Shoman N., Solomonova E., Akimov A. 2025. ZnO, CuO and TiO_2 nanoparticles impacts on natural phytoplankton community (in vitro) Environmental Science and Pollution Research 32: 21450-21462. DOI: 10.1007/s11356-025-36926-y

Solomonova E., Shoman N., Akimov A. et al. 2022. Differential responses of *Pleurochrysis* sp. (Haptophyta) to the effect of copper and light intensity. Functional Plant Biology 49(12): 1085-1094. DOI: 10.1071/FP22101

Stockenreiter M. 2025. Stay Connected to Be Diverse! Global Change Biology 31(1): e70046.

Suggett D.J., Moore C.M., Geider R.J. 2010. Estimating aquatic productivity from active fluorescence measurements. In: *Chlorophyll a fluorescence in aquatic sciences: methods and applications,* pp. 103–127. Dordrecht: Springer Netherlands. DOI: 10.1007/978-90-481-9268-7_6

Suman T.Y., Rajasree S.R.R., Kirubagaran R. et al. 2015. Evaluation of zinc oxide nanoparticles toxicity on marine algae *Chlorella vulgaris* through flow cytometric, cytotoxicity and oxidative stress analysis. Ecotoxicology and Environmental Safety 113: 23-30. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2014.11.015

Taipale S., Peltomaa E., Salmi P. et al. 2020. Variation in ω-3 and ω-6 polyunsaturated fatty acids produced by different phytoplankton taxa at early and late growth phase. Biomolecules 10(4): 559. DOI: 10.3390/biom10040559

Wang Y., Zhao Z., Song X. et al. 2025. Responses of coastal phytoplankton communities to herbicide exposure: enhanced resistance coupled with reduced resilience. Environmental Research 279: 121734. DOI: 10.1016/j.envres.2025.121734

Wichard T., Gerecht A., Boersma M. et al. 2007. Lipid and fatty acid composition of diatoms revisited: rapid wound-activated change of food quality parameters influences herbivorous copepod reproductive success. ChemBioChem 8(10): 1146-1153. DOI: 10.1002/cbic.200700053

Yang L., Mou S., Li H. et al. 2021. Terrestrial input of herbicides has significant impacts on phytoplankton and bacterioplankton communities in coastal waters. Limnology and Oceanography 66(11): 4028-4045.

Original Article
LIMNOLOGY FRESHWATER BIOLOGY

Genomic analysis of picocyanobacteria of the genus *Synechococcus* from Lake Baikal

Kaluzhnaya O.V., Gutnik D.I., Krasnopeev A.Yu., Tikhonova I.V., Potapov S.A., Belykh O.I.

Limnological Institute of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 3 Ulan-Batorskaya St., Irkutsk, 664033, Russia

ABSTRACT. The genus *Synechococcus* comprises photosynthetic picocyanobacteria that, as autotrophic microorganisms, make a significant contribution to the production of organic matter and oxygen in marine and freshwater ecosystems. The wide distribution of representatives of the genus *Synechococcus* is due to their genetic diversity and ecological plasticity. Of particular interest is the study of these microorganisms in unique natural ecosystems, such as Lake Baikal – a freshwater oligotrophic deep-water lake with a high percentage of endemism among its inhabiting species. This work presents an analysis of two genomes of *Synechococcus* representatives recovered from metagenomic data of microbial communities from the water of Lake Baikal (MAGs): *Synechococcus* sp. bin7 and *Synechococcus* sp. bin8. A structural and functional characterization of the genomes is provided, and genes for antibiotic resistance and secondary metabolite synthesis are identified. Phylogenetic analysis, including 90 closely related freshwater and marine representatives of the genus *Synechococcus* alongside the studied MAGs, showed that the genomes belong to different, rather distant, phylogenetic clades.

Keywords: *Synechococcus*, Lake Baikal, metagenome-assembled genomes (MAGs), phylogenomics, antibiotic resistance

For citation: Kaluzhnaya O.V., Gutnik D.I., Krasnopeev A.Yu., Tikhonova I.V., Potapov S.A., Belykh O.I. Genomic analysis of picocyanobacteria of the genus *Synechococcus* from Lake Baikal // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - P. 554-574. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-554

1. Introduction

Cyanobacteria of the genus *Synechococcus* are a dominant group of autotrophic picoplankton in aquatic ecosystems. They contribute significantly to primary production of organic matter and oxygen and serve as the base of food webs (Flombaum et al., 2013; Callieri, 2017). Their wide distribution, adaptability to diverse environmental conditions, high abundance, and small cell size make *Synechococcus* species a convenient model for studying ecological and genetic adaptation of microorganisms (Shapiro and Polz, 2015). Lake Baikal is a unique deep-water ecosystem characterized by a high degree of biotic endemism, low water temperatures not exceeding 10–12 ˚C in the pelagic zone even during summer, and exceptional water purity (Rusinek, 2009; Osipova et al., 2010). Picocyanobacteria, including representatives of the genus *Synechococcus*, play a notable role in the Baikal planktonic community, especially during summer stratification, when their abundance reaches 10^6 cells/mL (Belykh and Sorokovikova, 2003; Belykh et al., 2011). Their contribution to primary production, phytoplankton biomass, and chlorophyll concentration in Baikal can reach up to 80% (Nagata et al., 1994; Yoshida et al., 2003; Belykh and Sorokovikova, 2003).

Investigating the genetic diversity and phylogeny of cyanobacteria is of considerable scientific interest, as it allows for refinement of their taxonomic position and elucidation of evolutionary relationships between different taxa (Komárek et al., 2014; Garcia-Pichel et al., 2019). The ability of *Synechococcus* cyanobacteria to colonize water bodies with varying salinity, temperature regimes, and trophic status depends on their affiliation with a particular evolutionary lineage (Flombaum et al., 2013). Studies on the ecological and functional features of the genus *Synechococcus* have been conducted predominantly on marine or model

*Corresponding author. E-mail address: olga@lin.irk.ru (O.V. Kaluzhnaya)

Received: July 10, 2026;
Accepted after revised: August 12, 2026;
Available online: August 28, 2026

© Author(s) 2026. This work is distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

freshwater species, whereas representatives of natural populations from extreme and endemic ecosystems, such as Baikal, remain insufficiently described (Druce et al., 2023; Chiriac et al., 2023; Cabello-Yeves et al., 2018a; 2018b). For ancient oligotrophic lakes, where *Synechococcus* provide up to 80% of primary production, such data are essential for understanding ecosystem stability (Callieri, 2017; Belykh and Sorokovikova, 2003).

Traditional methods of isolating pure cyanobacterial cultures are labor-intensive and often fail to reflect the full spectrum of *in situ* genetic diversity. An alternative approach is metagenomic sequencing, which enables the reconstruction of metagenome-assembled genomes (MAGs) from environmental samples without cultivation (Yang et al., 2021). Although MAGs represent fragmented assemblies containing individual contigs rather than ideal complete genomes, this approach allows for the study of structural and functional genome organization, identification of key metabolic pathways and genes involved in adaptation to abiotic and biotic environmental factors, as well as assessment of diversity and phylogenetic position of natural population representatives (Cerk et al., 2024).

Analysis of metabolic pathways enables the determination of the biochemical potential of a microorganism, its metabolic limitations, and mechanisms of adaptation to abiotic environmental factors. The metabolic profile defines the range of assimilable compounds, the capacity for autotrophy, respiration, and nitrate and sulfate assimilation. Reconstruction of such pathways from genomic data allows prediction of dependence on external sources of carbon, nitrogen, and sulfur, as well as identification of key regulatory nodes. Comparison of metabolic modules between strains can reveal the molecular basis of stress tolerance, competitive advantages in specific habitats, and evolutionary trends of gene reduction or expansion, which is important both for understanding the ecological role of *Synechococcus* and for assessing their biotechnological potential.

The aim of this work is a comparative analysis of the structural organization of genomes, adaptive mechanisms, and phylogenetic position of two metagenome-assembled genomes, *Synechococcus* sp. bin7 and *Synechococcus* sp. bin8, recovered from water samples of Lake Baikal, as well as an assessment of their metabolic potential. It is hypothesized that these strains, inhabiting the same ecological niche, may exhibit genomic differences reflecting distinct adaptive strategies.

2. Materials and Methods

Water samples of 20 L volume from each depth (5 and 20 m) were collected in July 2024 at the middle of the Listvyanka–Tankhoy transect (Lake Baikal). Samples were sequentially filtered through polycarbonate filters with pore sizes of 5.0 μm to remove large particles, 0.4 μm, and 0.22 μm to collect picocyanobacteria. Stepwise water filtration, DNA extraction, sequencing, and metagenomic genome assembly were performed according to a previously described protocol (Gutnik et al., 2024). For each sample, sequencing was carried out in two independent paired-end runs (2×150 bp). The total raw data volume was 19.1 Gb for the 5 m sample and 26.8 Gb for the 20 m sample; after merging the data from both runs, the total number of paired reads reached 63.7 million and 89.3 million, respectively. Co-assembly of reads from the 5 m and 20 m depth samples allowed reconstruction of MAGs present in both samples. The relative abundance of recovered MAGs in metagenomic samples across depths was estimated using TPM (Transcripts Per Million) (Wagner et al., 2012; Bray et al., 2016). For annotation of metagenome-assembled genomes (MAGs), the Genome Annotation Service based on the RAST platform (Aziz et al., 2008) within the Bacterial and Viral Bioinformatics Resource Center (BV-BRC) was used. To assess the relatedness of the recovered MAGs to known cyanobacterial genomes, the average nucleotide identity (ANI) was calculated (Jain et al., 2018).

For phylogenetic analysis of the studied MAGs, a search for the closest publicly available genomes was performed using the Similar Genome Finder tool integrated into BV-BRC (Ondov et al., 2016), where genome distances are calculated using the Mash method. Genomes meeting the threshold values of P value < 0.01 and Distance < 0.2 were included in the phylogenetic analysis. A total of 90 genomes were selected, including the two studied MAGs. The cyanobacterium *Gloeobacter violaceus* PCC 7421 (GCA_000011385.1) was used as an outgroup for tree construction. From 1000 candidate PGFam genes, the program selected 127 single-copy markers with an acceptable level of missing data (no more than 5 deletions or no more than 5 duplications per gene in the dataset). Alignment of the corresponding protein sequences (127 alignments, totaling 41,816 amino acid positions) was performed using MAFFT (Katoh and Standley, 2013). A phylogenetic tree was constructed based on the selected single-copy protein markers using the maximum likelihood method; bootstrap support was assessed using RAxML version 8.2 (Stamatakis, 2014).

CRISPR arrays with associated Cas proteins were identified using Bakta on the Proksee web platform (Grant et al., 2023). Annotation of genes involved in antimicrobial susceptibility and resistance was performed by comparison with the PATRIC and CARD reference databases (Wattam et al., 2017; Alcock et al., 2023).

Search for biosynthetic gene clusters of secondary metabolites in the studied genomes was performed using the online version of the antiSMASH software platform 8.0.4 (Medema et al., 2011; Blin et al., 2025) with default parameters (HMM detection stringency level – relaxed). To assess the similarity of the detected genetic loci to known clusters, the built-in ClusterBlast and KnownClusterBlast modules were used. According to antiSMASH algorithms, for ClusterBlast (comparison with predicted clusters from the antiSMASH database), the thresholds are minimum identity of 30% and coverage of 10%, whereas for KnownClusterBlast (comparison with experimentally confirmed clusters from the MIBiG database), the thresholds are 45% and 40%, respectively (Blin et al., 2025).

3. Results and Discussion

3.1. Structural and functional organization of MAGs

The genomes of *Synechococcus* sp. bin7 (165 contigs, 2,053,016 bp) and *Synechococcus* sp. bin8 (145 contigs, 1,829,603 bp), assembled from metagenomic data, showed rather high assembly completeness — 97.7% and 96.1%, respectively — and low contamination levels — 1.8% and 1.2%, indicating the high quality of the obtained MAGs (Table 1).

Despite the fact that both MAGs were isolated from the same habitat and assigned to the same genus, their G + C content differs substantially (*Synechococcus* sp. bin7 — 65.87%, *Synechococcus* sp. bin8 — 50.22%), which is often associated with adaptation to different environmental conditions (Musto et al., 2004). The high GC content of strain *Synechococcus* sp. bin7 may indicate its better adaptation to stress factors in surface waters, such as intense UV radiation and oxidative stress (Zhaxybayeva et al., 2009).

Assessment of relative abundance based on metagenomic data (TPM calculated from DNA) showed that at a depth of 5 m, the amount of genetic material of *Synechococcus* sp. bin7 (48,321 TPM) is significantly higher than that of *Synechococcus* sp. bin8 (11,728 TPM). With increasing depth to 20 m, the relative abundance of both strains decreases; however, for *Synechococcus* sp. bin7 the decline is more pronounced — by 3.3-fold (to 14,567 TPM), whereas for *Synechococcus* sp. bin8 — by 1.7-fold (to 6,835 TPM).

The decrease in relative abundance (TPM) with depth indicates that *Synechococcus* sp. bin7 is confined to surface waters, while *Synechococcus* sp. bin8 maintains higher abundance in the lower layers of the euphotic zone. Thus, *Synechococcus* sp. bin7 represents a specialized surface-water strain, whereas *Synechococcus* sp. bin8 exhibits a more eurytopic distribution strategy in the water column, which may reflect differences in ecological niches among closely related cyanobacteria (Pittera et al., 2014).

According to the annotation of the studied genomes in the BV-BRC database using the RAST toolset, the taxonomic position of the genomes is as follows: domain Bacteria, phylum Cyanobacteriota, class Cyanophyceae, order Synechococcales, family Synechococcaceae, genus *Synechococcus*. The closest genome to *Synechococcus* sp. bin7, based on average nucleotide identity, is the Baikal strain *Synechococcus* sp. Baikal-G1 (ANI 98.78%), and for *Synechococcus* sp. bin8 — *Synechococcus* sp. LacPavin 0920 (ANI 97.75%). Since both values exceed the generally accepted threshold for species delineation (95%), *Synechococcus* sp. bin7 can be assigned to the same species as strain *Synechococcus* sp. Baikal-G1, and *Synechococcus* sp. bin8 to the same species as strain *Synechococcus* sp. LacPavin 0920 (Jain et al., 2018). The average nucleotide identity (ANI) value between the studied strains *Synechococcus* sp. bin7 and *Synechococcus* sp. bin8 was 68%, which is significantly lower than the generally accepted threshold for species delineation (95%) and confirms their belonging to different species.

The main genomic characteristics of the strains obtained from annotation using the PATRIC platform, as well as the distribution of coding sequences (CDS) across RAST functional subsystems, are presented in Table 2.

The total number of identified coding sequences (CDS) in strain *Synechococcus* sp. bin7 (2,202) is 196 genes higher than in *Synechococcus* sp. bin8 (2,006), whereas the number of tRNA genes is almost identical (36 and 35, respectively). At the same time, the CDS density per 1 Mbp was comparable (1,072.6 in *Synechococcus* sp. bin7 versus 1,096.4 in *Synechococcus* sp. bin8), indicating a similar overall saturation of the genomes with genetic information, and the differences in absolute numbers are mainly due to the larger genome size of *Synechococcus* sp. bin7.

The most substantial differences between the strains were identified in the category of energy metabolism. Specifically, *Synechococcus* sp. bin7 had 161 CDS versus 84 in *Synechococcus* sp. bin8, which may reflect a more branched energy metabolism network, possibly including additional components of photosynthetic or respiratory chains (Brown, 2018). This phenomenon is consistent with data on the high ecological plasticity of *Synechococcus* representatives (Callieri, 2017). Also, in the categories of metabolism, there are 445 genes versus 355, and protein processing — 187 versus 135, respectively. This fact may suggest a broader meta-

Table 1. Characteristics of metagenome-assembled genomes (MAGs) of *Synechococcus* sp. bin7 and *Synechococcus* sp. bin8

Characteristic	*Synechococcus* sp. bin7	*Synechococcus* sp. bin8
MAG length (bp)	2 053 016	1 829 603
Completeness, %	97.7	96.1
Contamination, %	1.8	1.2
GC content, %	65.87	50.22
Number of contigs	165	145
N_{50} (bp)	21 397	22 259
Closest genome (assembly accession)	*Synechococcus* sp. Baikal-G1 (GCA_002737305.1)	*Synechococcus* sp. LacPavin 0920 (GCA_026389135.1)
ANI, %	98.78	97.75
TPM (5м)	48 321	11 728
TPM (20м)	14 567	6 835

Table 2. Functional annotation of the genomes of *Synechococcus* sp. bin7 and *Synechococcus* sp. bin8

Annotated Genome Features	*Synechococcus* sp. bin7	*Synechococcus* sp. bin8
CDS	2202	2006
tRNA	36	35
Subsystems genes		
Metabolism	445	355
Protein processing	187	135
Stress response	45	43
Energy	161	84
RNA processing	48	47
DNA processing	60	44
Cellular processes	17	30
Cell envelope	11	12
Membrane transport	15	8
Regulation and cell signaling	3	3
Number of CDS per 1 Mbp	1 072.6	1 096.4

bolic potential and more efficient protein homeostasis in *Synechococcus* sp. bin7. The nearly twofold difference in membrane transport genes (15 versus 8) likely reflects the ability of *Synechococcus* sp. bin7 to assimilate a wider range of nutrients from the environment. In the DNA processing category, a greater number of genes was also noted in *Synechococcus* sp. bin7 (60 versus 44), suggesting the presence of a greater diversity of repair systems in this genome; however, a final conclusion requires analysis of specific genes. As shown in Brown (2018), an increase in the number of genes in categories related to energy and transport often correlates with specialization to specific ecological niches, which is consistent with the data on the distribution of relative abundance of the strains.

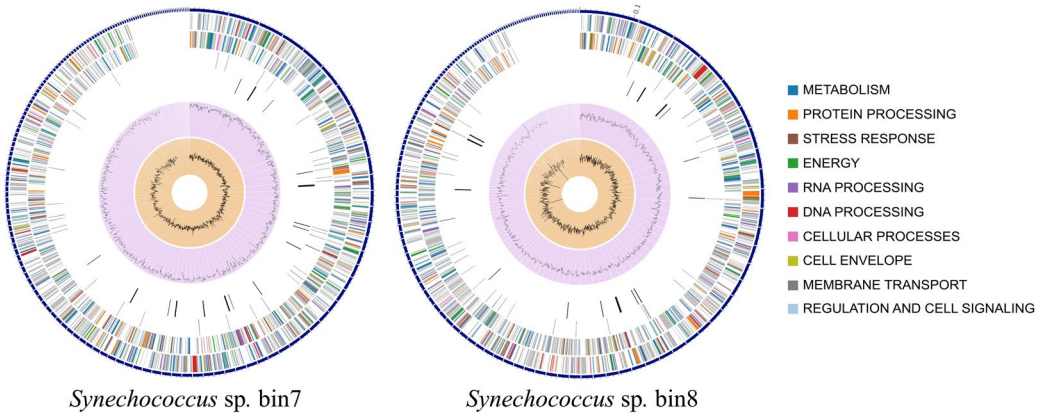
At the same time, in the category of cellular processes, the opposite pattern is observed: *Synechococcus* sp. bin8 has 30 genes versus 17 in *Synechococcus* sp. bin7, stress response (45 versus 43), RNA processing (48 versus 47), and cell envelope (11 versus 12). In these categories, the values differ insignificantly, which may indicate comparable adaptation of both strains and reflect similarity in basic survival mechanisms (Martsinechko et al., 2024). The number of genes for regulation and cellular signaling (3 per MAG) may indicate the conservatism of these systems in the studied picocyanobacteria.

The identified differences in the number of genes involved in energy and metabolic exchange are in good agreement with the data on the distribution of relative abundance (TPM) of the two strains across depth. The higher content of genetic material of *Synechococcus* sp. bin7 in the surface layer (5 m: 48,321 TPM versus 11,728 TPM for *Synechococcus* sp. bin8) and its sharper decline with depth (a 3.3-fold decrease in *Synechococcus* sp. bin7 versus a 1.7-fold decrease in *Synechococcus* sp. bin8) indicate the specialization of this strain to the well-illuminated euphotic zone. The developed energy metabolism system (161 versus 84 CDS) and membrane transport (15 versus 8) in *Synechococcus* sp. bin7 likely provide efficient utilization of light energy and nutrient uptake in oligotrophic surface waters, where competition for resources is particularly high (Flombaum et al., 2013). In contrast, *Synechococcus* sp. bin8, which has a more modest set of energy metabolism genes, demonstrates more stable relative abundance in the 5–20 m range, which may indicate its ability to exist under reduced light conditions characteristic of the lower boundary of the euphotic zone. Thus, genomic differences in metabolic potential reflect the differentiation of ecological niches along the vertical light gradient: *Synechococcus* sp. bin7 is a surface-water specialist, whereas *Synechococcus* sp. bin8 is a generalist with a broader depth amplitude.

The similarity in the number of anti-stress system genes (45 versus 43) confirms the presence of common adaptive strategies to the conditions of a deep-water endemic lake (Rodriguez-Valera et al., 2017), where selective factors may include seasonal temperature fluctuations, low mineralization, and high water transparency characteristic of Baikal. The elevated G + C content in *Synechococcus* sp. bin7 (65.87%) compared to *Synechococcus* sp. bin8 (50.22%) further supports the hypothesis of better adaptation of the former to oxidative stress in surface waters with high insolation (Zhaxybayeva et al., 2009).

The circular genome annotation diagram reflects the structural and functional organization of the studied MAGs (Fig. 1). From the outer to the inner ring, the diagram displays: contigs in descending order of their lengths, CDS on the forward strand and CDS on the reverse strand, RNA genes, CDS with homology to antibiotic resistance genes, CDS with homology to virulence factors, G + C content, and G/C skew on contigs. The color of CDS in the diagram corresponds to their assignment to RAST functional subsystems according to Table 2. The identified antibiotic resistance and virulence loci belong to the category of genes associated with adaptive traits of microorganisms (Bertelli and Brinkman, 2018).

It should be noted that interpretation of differences in CDS numbers requires caution, since some genes may result from duplications, differences in annotation, or the presence of pseudogenes in the stud-



Synechococcus sp. bin7 *Synechococcus* sp. bin8

Fig.1. Circular diagram of genome annotation of *Synechococcus* sp. bin7 and *Synechococcus* sp. bin8. Mapped from the outer to the inner circle: contigs of the studied MAGs, coding sequences (CDS) on the forward strand, CDS on the reverse strand, RNA genes, genes homologous to known antimicrobial resistance genes, G + C content, and GC-skew. Scale of the circular diagram – 1 division equals 0.1 Mbp. Colors of CDS on the forward and reverse strands indicate the gene subsystem (according to the legend).

ied MAGs. Nevertheless, the identified patterns are consistent with the hypothesis of ecological niche differentiation of the two Baikal *Synechococcus* strains along the vertical light gradient (Flombaum et al., 2013; Rodriguez-Valera et al., 2017).

3.2. Phylogenetic analysis

The phylogenetic tree constructed based on 90 picocyanobacterial genomes is shown in Figure 2. The analyzed dataset included 44 genomes of freshwater strains, among which were: the studied MAGs *Synechococcus* sp. bin7 and *Synechococcus* sp. bin8 (highlighted in red and bold font), a subgroup of 7 Baikal MAGs obtained previously (purple), and the remaining 35 genomes of freshwater picocyanobacteria from international databases (green). The marine group comprised 45 genomes (blue). Bootstrap support values are indicated on the branches at levels above 50%. The genome of *Gloeobacter violaceus* PCC 7421 (black) was used as an outgroup — the most evolutionarily distant representative of cyanobacteria, occupying a basal position on the phylogenetic tree.

The studied Baikal MAGs were distributed across two phylogenetically distant clades differing in composition and ecological representativeness. *Synechococcus* sp. bin7 was localized in a clade uniting exclusively freshwater strains: *Synechococcus* sp. Baikal-G1 (Baikal), *Synechococcus* sp. UW140 strain MsE-30apr19-67 and *Synechococcus* sp. UW140 MiH-22jul19-245 (Czech Republic), as well as uncultured *Synechococcus* sp. Umea1p2_bin949 and Umea1p3_bin942 (Sweden). This cluster demonstrates an association with oligotrophic and mesotrophic ecosystems and confinement to surface, well-illuminated horizons, which is consistent with the high relative abundance of *Synechococcus* sp. bin7 in the euphotic zone (5 m: 48,321 TPM) (Dvorak et al., 2014; Callieri, 2017). In contrast, *Synechococcus* sp. bin8 fell within a mixed clade comprising both freshwater and marine genomes. The closest to it were freshwater strains from Lake Pavin (*Synechococcus* sp. LacPavin_0920_WC12_MAG_50_7, France), Lake La Cruz (*Synechococcus* sp. Cruz CV12-2-Slac-r, Spain; also known as *Synechococcus lacustris*), Lake Superior (*Synechococcus* sp. SupBloom_Metag_053), as well as marine strains from the Caspian Sea (*Cyanobacteria bacterium* casp150_mb.24 and casp40_mb.49) and the Baltic Sea (uncultured *Synechococcus* sp. ERR2206772_bin.170). The presence in this clade of representatives from water bodies of varying trophic status — from ultra-oligotrophic to eutrophic — as well as marine forms indicates broader ecological plasticity of this cluster (Cabello-Yeves et al., 2018b; Carratalà et al., 2023). This is consistent with the relative abundance of *Synechococcus* sp. bin8, which decreases less sharply with depth (only 1.7-fold: from 11,728 to 6,835 TPM), suggesting its ability to maintain metabolic activity over a wider depth range (Pittera et al., 2014; Flombaum et al., 2013).

The genus *Synechococcus* is polyphyletic: some marine strains included in the analysis and previously assigned to *Synechococcus*, according to current data, belong to a clade sister to *Prochlorococcus*, validated as the independent genus *Parasynechococcus* (Coutinho et al., 2016; Komárek et al., 2020). The selection of reference genomes for the analysis was performed using threshold values of confidence and genomic distance calculated by the Mash method, and the phylogenetic tree was constructed based on single-copy marker genes, which allows assessment of the relative position of the studied MAGs among available reference genomes and the degree of their phylogenetic distance from each other.

The ANI value when comparing *Synechococcus* sp. bin7 and *Synechococcus* sp. bin8 was 68%, indicating their belonging to different species and consistent with their placement in different phylogenetic clades. The phylogenetic proximity of *Synechococcus* sp. bin7 to freshwater strains, and of *Synechococcus* sp. bin8 to a mixed clade with marine representatives, indicates their different evolutionary histories. *Synechococcus* sp. bin7 likely belongs to a more ancient freshwater lineage, whereas *Synechococcus* sp. bin8 shows signs of adaptation to conditions of variable salinity or belongs to a phylogenetic lineage characterized by tolerance to a wide salinity range (Rosales et al., 2005; Cabello-Yeves et al., 2018b; Flombaum et al., 2013).

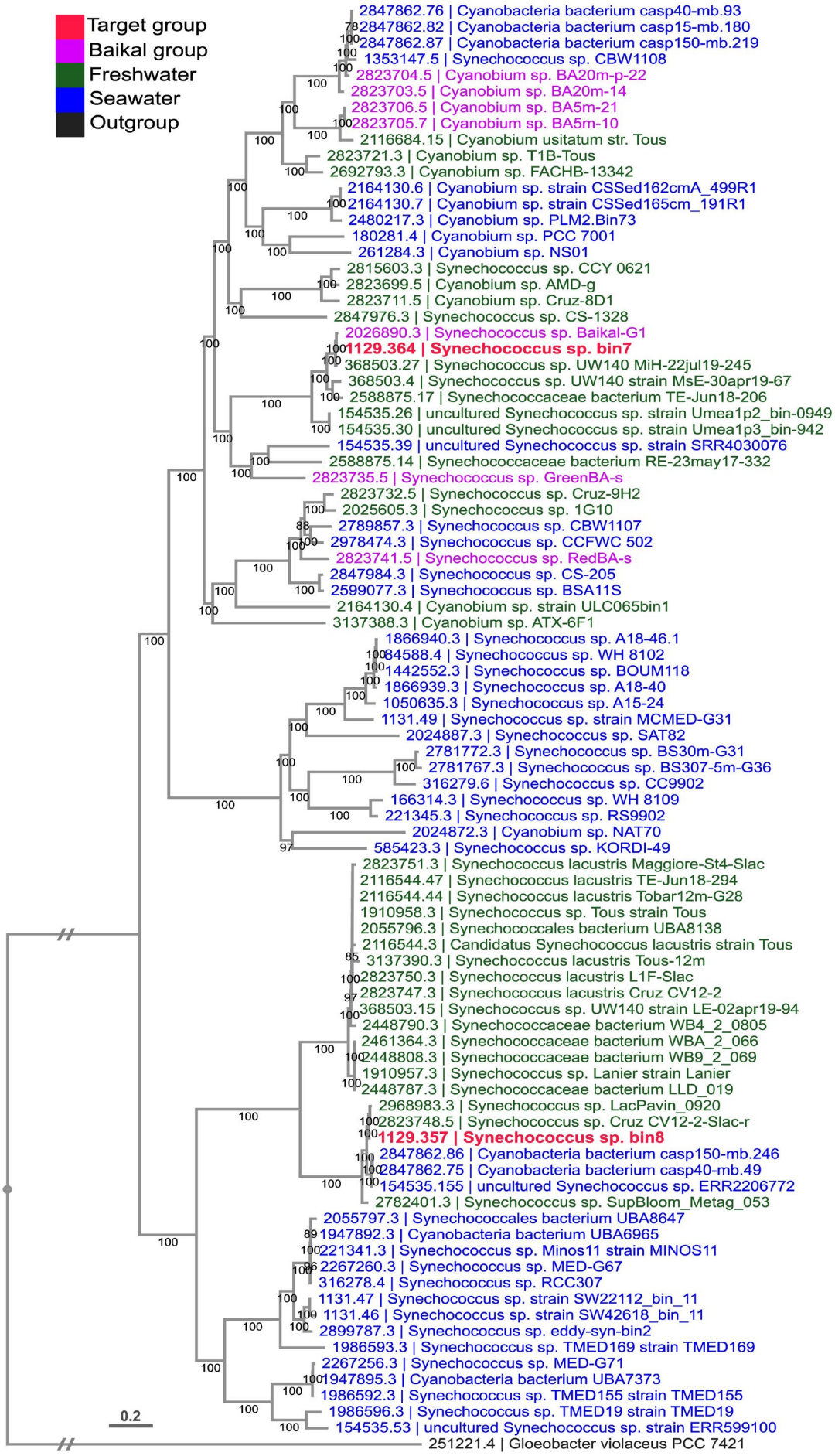


Fig.2. Phylogenetic tree of picocyanobacteria constructed based on 127 single-copy marker genes. Bootstrap support >50% is indicated on the branches. Groups are highlighted in colors: red – the studied MAGs *Synechococcus* sp. bin7 and *Synechococcus* sp. bin8; purple – Baikal strains; green – other representatives of the freshwater group; blue – marine group. The outgroup is *Gloeobacter violaceus* PCC 7421.

The presence of marine strains from the Caspian Sea in the clade of *Synechococcus* sp. bin8 indicates the phylogenetic relatedness of this strain to halophilic lineages, which may be considered as indirect evidence of the genetic potential of the Baikal strain for adaptation to salinity fluctuations. However, phylogenetic position alone is not proof of the presence of corresponding adaptive mechanisms, and to confirm this hypothesis, identification of specific genes involved in osmotic regulation (e.g., osmolyte transporters, compatible solute synthesis systems) is required; their presence in the genome of *Synechococcus* sp. bin8 needs separate analysis. Thus, phylogenetic analysis confirmed the genetic diversity of Baikal *Synechococcus*, and also showed that the endemic ecosystem of Lake Baikal, like other deep lakes, serves as a reservoir of evolutionary diversity of cyanobacteria (Callieri, 2017; Cabello-Yeves et al., 2018a; Carratalà et al., 2023).

3.3. Antibiotic resistance and immune defense mechanisms

Comparison of the two strains *Synechococcus sp.* bin7 and *Synechococcus* sp. bin8 with respect to the presence of antibiotic resistance genes and defense systems revealed both conserved features and strain-specific characteristics (Table 3).

Both studied genomes contain a set of antibiotic target genes: *alr*, *ddl*, *gyrA*, *gyrB*, *rpoB*, *EF-G*, *EF-Tu*, *murA*, *folP*, *dxr*, *inhA*, *fabI*, *kasA*, *S10p*, *S12p*, and *Iso-tRNA*, encoding proteins essential for cell viability: enzymes of cell wall synthesis (Alr, Ddl, MurA), DNA gyrase (GyrA, GyrB), RNA polymerase (RpoB), translation elongation factors (EF-G, EF-Tu), as well as enzymes of folate (FolP) and fatty acid synthesis (InhA, FabI, KasA). The action of most antibiotics is directed precisely at these proteins, so the presence of the corresponding genes indicates the preservation of natural susceptibility of cyanobacteria to antimicrobial agents, provided that mutations reducing binding affinity are absent (Blair et al., 2015; Callieri, 2017).

Both strains contain the *gidB* gene, encoding the methyltransferase GidB, which modifies 16S rRNA, ensuring proper ribosome assembly. Upon inactivation of *gidB*, methylation of 16S rRNA is disrupted, the ribosome changes conformation, and aminoglycoside antibiotics lose their ability to bind to it. Thus, loss of GidB function randomly confers resistance to aminoglycosides (Okamoto et al., 2007).

Genes for glycopeptide resistance, *vanY* and *vanT*, are present in both strains. Gene *vanY* encodes a D,D-carboxypeptidase that hydrolyzes the terminal D-alanine from sensitive cell wall precursors (UDP-MurNAc-pentapeptide [D-Ala]), reducing their intracellular pool and thereby contributing to glycopeptide resistance (Arthur and Quintiliani, 2001). Gene *vanT* encodes a membrane-bound serine racemase that converts L-serine to D-serine — a substrate for the synthesis of vancomycin-resistant precursors, the terminal dipeptide of which contains D-alanine-D-serine (VanG-type resistance) (Stogios and Savchenko, 2020). However, additional experimental studies are required to confirm the functional activity of these genes in the Baikal *Synechococcus* strains.

Analysis of CRISPR-Cas systems revealed the following differences. CRISPR-Cas is an adaptive immune system of bacteria that stores DNA fragments of previously attacking viruses (spacers) and upon reinfection cleaves the viral DNA. Both strains contain the type I *cas3* gene. The Cas3 protein possesses both helicase and nuclease activity: it unwinds the double-stranded DNA of the virus and cleaves it, providing the effector stage of immunity (Sinkunas et al., 2011). In the genome of *Synechococcus* sp. bin8, the *cas4* gene, belonging to types I–II, is additionally present. The Cas4 protein participates in the adaptation stage: it helps distinguish foreign DNA from self-DNA and facilitates the integration of new spacers into the CRISPR array (McGinn and Marraffini, 2019).

Thus, *Synechococcus* sp. bin8 differs from *Synechococcus* sp. bin7 by the presence of an additional *cas4* gene, suggesting a more complex adaptive immune system in this strain. These differences, against the background of phylogenetic distinctness of the strains from each other (results presented in section 3.2), reflect the genomic diversity of *Synechococcus* (Martsinechko et al., 2024; Flombaum et al., 2013). It can be hypothesized that the presence of *cas4* in *Synechococcus* sp. bin8 provides more efficient protection against bacteriophages, which may be an important factor for survival in the Baikal plankton, where viral pressure is significant (Sorek et al., 2013; Rodriguez-Valera et al., 2017).

3.4. Biosynthetic gene clusters of secondary metabolites

Analysis using antiSMASH revealed several biosynthetic gene clusters of secondary metabolites in the genomes of the studied strains, presented in Table 4. In the MAG of *Synechococcus* sp. bin7, a terpene cluster containing the genes *PSY/CrtB* and *PT_FPPS_like* was detected, as well as a type III polyketide syn-

Table 3. Genes of antimicrobial sensitivity and resistance, and CRISPR-Cas systems according to PATRIC and CARD data

Resistance mechanism	*Synechococcus* sp. bin7	*Synechococcus* sp. bin8
Antibiotic targets	*alr, ddl, dxr, EF-G, EF-Tu, folP, gyrA, gyrB, inhA, fabI, Iso-tRNA, kasA, murA, rpoB, S10p, S12p*	*alr, ddl, dxr, EF-G, EF-Tu, folP, gyrA, gyrB, inhA, fabI, Iso-tRNA, kasA, murA, rpoB, S10p, S12p*
Gene conferring resistance by loss-of-function	*gidB*	*gidB*
Glycopeptide resistance (CARD)	*vanY, vanT*	*vanY, vanT*
CRISPR-Cas (nucleases/helicases)	*cas3* (type I)	*cas3* (type I), *cas4* (type I–II)

Table 4. Key genes of biosynthetic gene clusters of secondary metabolites in the genomes of the studied MAGs, identified using antiSMASH analysis

Cluster	*Synechococcus* sp. bin7	*Synechococcus* sp. bin8
Terpene	*PSY/CrtB*, *PT_FPPS*_like	*lycopene cyclase*, *FPPS*, *PSY/CrtB*
PKS	*T3PKS*	*T3PKS*
NRPS	—	*CDPS*

thase cluster (T3PKS). In the MAG of *Synechococcus* sp. bin8, homologs of terpene genes (*lycopene cyclase*, *FPPS*, *PSY/CrtB*), a type III PKS cluster (T3PKS), and an NRPS cluster with *CDPS* (cyclodipeptide synthase) were identified.

The presence of the *PSY/CrtB* gene in both strains and *lycopene cyclase* in *Synechococcus* sp. bin8 indicates the presence of a carotenogenic pathway that provides cell protection against oxidative stress (Srivastava et al., 2022). Type III polyketide synthase clusters (T3PKS) catalyze the condensation of malonyl-CoA with acyl-CoA primers to form aromatic polyketides, including alkylresorcinols and phloroglucinols (Abe and Morita, 2010; Austin and Noel, 2003). The detected T3PKS clusters show similarity to the known hierridin B/C cluster, which is responsible for polyketide biosynthesis in cyanobacteria (Leão et al., 2019).

Secondary metabolites of cyanobacteria play a key role in interspecies interactions, protection against abiotic and biotic stresses, as well as in shaping the structure of microbial communities (Dittmann et al., 2015). The revealed heterogeneity of biosynthetic clusters between the two strains reflects the metabolic diversity of the genus *Synechococcus*, which may determine the differentiation of ecological niches and competitive strategies in natural microbial communities. The presence of a unique NRPS cluster with *CDPS* only in *Synechococcus* sp. bin8 suggests its ability to produce bioactive peptides, which, according to studies, may provide this strain with a competitive advantage under specific ecological conditions (Cimermancic et al., 2014; Pancrace et al., 2017). The production of secondary metabolites, such as terpenes and polyketides, according to the literature, provides protection against photodegradation, antimicrobial activity, and allelopathic effects on other microorganisms, which is particularly important under conditions of high-water transparency and low trophic status characteristic of Baikal (Kust et al., 2018). The detected genes associated with the biosynthesis of terpenes, polyketides, and NRPS indicate the potential ability of the strains to produce bioactive compounds, which opens prospects for their possible application in pharmacology, bioremediation, and other biotechnological fields (Dittmann et al., 2015; Pancrace et al., 2017).

4. Conclusion

The application of a metagenomic approach enabled the reconstruction and comparative analysis of genomes of natural populations of picocyanobacteria of the genus *Synechococcus* from Lake Baikal. Lake Baikal is a deep-water oligotrophic water body with consistently low water temperatures. In the pelagic zone, representatives of this genus produce up to 80% of organic matter during primary synthesis. Both recovered MAGs were characterized by high assembly completeness (97.7% and 96.1%) and low contamination levels, confirming their high quality. Phylogenetic analysis revealed that the studied strains belong to two distant clades, indicating long-term evolutionary divergence within a single biotope. *Synechococcus* sp. bin7 belongs to a freshwater clade, whereas *Synechococcus* sp. bin8 belongs to a mixed clade that also contains genomes of marine strains. Additionally, genes associated with stress response, antibiotic resistance, and CRISPR-Cas systems were identified in the genomes. Genes associated with antibiotic resistance (including the conserved *vanY/vanT*) and CRISPR-Cas systems, which are characteristic of freshwater cyanobacteria, were found in the genomes. The identified differences in metabolic potential, including a more developed energy metabolism and membrane transport system in *Synechococcus* sp. bin7, as well as the presence of the strain-specific *cas4* gene in *Synechococcus* sp. bin8, reflect the differentiation of ecological niches along the vertical light gradient and competitive strategies under oligotrophic conditions. The identified genes associated with the synthesis of terpenes, polyketides, and non-ribosomal peptides suggest that the studied strains possess biotechnological potential, which, after further investigation, may find application in pharmacology and bioremediation. It should be emphasized that all conclusions regarding antibiotic resistance and biosynthetic potential are based on genomic data and are predictive in nature, requiring experimental verification. The obtained results expand the existing understanding of genomic diversity, ecological plasticity, and molecular mechanisms of adaptation of freshwater picocyanobacteria in the endemic ecosystem of Lake Baikal.

Acknowledgements

This work was supported by the State Research Topic of LIN SB RAS No. FWSR-2026-0004 1023032700318-2-1.6.2.

Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest.

References

Abe I., Morita H. 2010. Structure and function of the chalcone synthase superfamily of plant type III polyketide synthases. Natural Product Reports 27(6): 809–838. DOI: 10.1039/b909988n

Alcock B.P., Huynh W., Chalil R. et al. 2023. CARD 2023: expanded curation, support for machine learning, and resistome prediction at the Comprehensive Antibiotic Resistance Database. Nucleic Acids Research 51(D1): D690–D699. DOI: 10.1093/nar/gkac920

Arthur M., Quintiliani R. 2001. Regulation of VanA- and VanB-type glycopeptide resistance in enterococci. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 45(2): 375–381. DOI: 10.1128/AAC.45.2.375-381.2001

Austin M.B., Noel J.P. 2003. The chalcone synthase superfamily of type III polyketide synthases. Natural Product Reports 20(1): 79–110. DOI: 10.1039/b100917f

Aziz R.K., Bartels D., Best A.A. et al. 2008. The RAST Server: rapid annotations using subsystems technology. BMC Genomics 9: 75. DOI: 10.1186/1471-2164-9-75

Belykh O.I., Sorokovikova E.G. 2003. Autotrophic picoplankton in Lake Baikal: Abundance, dynamics, and distribution. Aquatic Ecosystem Health & Management 6(3): 251–261. DOI: 10.1080/14634980301489

Belykh O.I., Tikhonova I.V., Sorokovikova Ye.G. et al. 2011. Picoplankton Cyanoprokaryota of Genera *Synechococcus* Nägeli and *Cyanobium* Rippka et Cohen-Baz. from Lake Baikal (Russia). International Journal on Algae 13(2): 149–163. DOI: 10.1615/InterJAlgae.v13.i2.50

Bertelli C., Brinkman F.S.L. 2018. Improved genomic island predictions with IslandViewer 4. Nucleic Acids Research 46(W1): W26–W30. DOI: 10.1093/nar/gky376

Blair J.M.A., Webber M.A., Baylay A.J. et al. 2015. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. Nature Reviews Microbiology 13: 42–51. DOI: 10.1038/nrmicro3380

Blin K., Shaw S., Weber T. 2025. antiSMASH 8.0: extended gene cluster detection capabilities and analyses of chemistry, enzymology, and regulation. Nucleic Acids Research 53(W1): W32–W38. DOI: 10.1093/nar/gkae1110

Bray N.L., Pimentel H., Melsted P. et al. 2016. Near-optimal probabilistic RNA-seq quantification. Nature Biotechnology 34(5): 525–527. DOI: 10.1038/nbt.3519

Brown T.A. 2018. Genomes 4. 4th ed. New York: Garland Science. DOI: 10.1201/9781315226828

Cabello-Yeves P.J., Haro-Moreno J.M., Martin-Cuadrado A.B. et al. 2018. Novel Synechococcus genomes reconstructed from freshwater reservoirs unravel ecological and genomic differentiation. Scientific Reports 8(1): 1109. DOI: 10.1038/s41598-018-19227-0

Cabello-Yeves P.J., Picazo A., Camacho A. et al. 2018. Ecological and genomic features of two widespread freshwater picocyanobacteria. Environmental Microbiology 20(10): 3757–3771. DOI: 10.1111/1462-2920.14377

Callieri C. 2017. *Synechococcus* plasticity under environmental changes. FEMS Microbiology Letters 364(23): fnx229. DOI: 10.1093/femsle/fnx229

Carratalà A., Chappelier C., Selmoni O. et al. 2023. Vertical distribution and seasonal dynamics of planktonic cyanobacteria communities in a water column of deep mesotrophic Lake Geneva. Frontiers in Microbiology 14: 1295193. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1295193

Cerk K., Ugalde-Salas P., Nedjad C.G. et al. 2024. Community-scale models of microbiomes: Articulating metabolic modelling and metagenome sequencing. Microbial Biotechnology 17(1): e14396. DOI: 10.1111/1751-7915.14396

Chiriac M.C., Haber M., Salcher M.M. 2023. Adaptive genetic traits in pelagic freshwater microbes. Environmental Microbiology 25(3): 606–641. DOI: 10.1111/1462-2920.16340

Cimermancic P., Medema M.H., Claesen J. et al. 2014. Insights into secondary metabolism from a global analysis of prokaryotic biosynthetic gene clusters. Cell 158(2): 412–421. DOI: 10.1016/j.cell.2014.06.034

Coutinho F., Theodorou M.C., Antunes A. 2016. Comparative genomics of Synechococcus and Prochlorococcus: a review. Journal of Marine Science and Engineering 4(4): 78. DOI: 10.3390/jmse4040078

Dittmann E., Gugger M., Sivonen K. et al. 2015. Natural product biosynthetic diversity and comparative genomics of the cyanobacteria. Trends in Microbiology 23(10): 642–652. DOI: 10.1016/j.tim.2015.07.008

Druce E., Chiriac M.C., Sánchez P. et al. 2023. Metagenomic insights into the evolution and adaptive strategies of cyanobacteria from freshwater to marine environments. Environmental Microbiology 25(4): 789–805. DOI: 10.1111/1462-2920.16340

Dvorak P., Casamatta D.A., Poulickova A. et al. 2014. *Synechococcus*: 3 billion years of global dominance. Molecular Ecology 23(22): 5538–5551. DOI: 10.1111/mec.12948

Flombaum P., Gallegos J.L., Gordillo R.A. et al. 2013. Present and future global distributions of the marine Cyanobacteria *Prochlorococcus* and *Synechococcus*. Proceedings of the National Academy of Sciences USA 110(24): 9824–9829. DOI: 10.1073/pnas.1307701110

Garcia-Pichel F., Lombard M.A., Soule T. et al. 2019. Cyanobacterial exopolysaccharides: composition, structure, and ecological significance. In: Mishra A.K., Tiwari D.N., Rai A.N. (Eds.), Cyanobacteria: From Basic Science to Applications. Academic Press, pp. 77–98. DOI: 10.1016/B978-0-12-814667-5.00004-0

Grant J.R., Enns E., Marinier E. et al. 2023. Proksee: in-depth characterization and visualization of bacterial genomes. Nucleic Acids Research 51(W1): W484–W492. DOI: 10.1093/nar/gkad326

Gutnik D.I., Potapov S.A., Krasnopeev A.Y. et al. 2024. Characterization of *Saccharimonadia* bacteria in Lakes Baikal and Khubsugul: taxonomic and functional diversity. Limnology and Freshwater Biology 4: 908–924. DOI: 10.31951/2658-3518-2024-A-4-908

Jain C., Rodriguez-R L.M., Phillippy A.M. et al. 2018. High throughput ANI analysis of 90K prokaryotic genomes reveals clear species boundaries. Nature Communications 9(1): 5114. DOI: 10.1038/s41467-018-07641-9

Katoh K., Standley D.M. 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. Molecular Biology and Evolution 30(4): 772–780. DOI: 10.1093/molbev/mst010

Komárek J., Kaštovský J., Mareš J. et al. 2014. Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera) 2014, using a polyphasic approach. Preslia 86(4): 295–335.

Komárek J., Johansen J.R., Šmarda J. et al. 2020. Phylogeny and taxonomy of Synechococcus-like cyanobacteria. Fottea 20(2): 123–134. DOI: 10.5507/fot.2020.006

Kust A., Khmelnitsky M., Miroshnikov A. et al. 2018. Secondary metabolites of cyanobacteria from Lake Baikal. Limnology and Freshwater Biology 1: 46–52.

Leão P.N., Nakamura H., Costa M. et al. 2019. Structure of Hierridin C, Synthesis of Hierridins B and C, and Evidence for Prevalent Alkylresorcinol Biosynthesis in Picocyanobacteria. Journal of Natural Products 82(3): 572–578. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.8b01038

Martsinechko A.S., Chebykin E.P., Chebunina N.S. et al. 2024. Assessment of the water quality of Lake Baikal and its tributaries in areas affected by local pollution based on microbiological and hydrochemical data. Limnology and Freshwater Biology 4: 998–1004. DOI: 10.31951/2658-3518-2024-A-4-998

McGinn J., Marraffini L.A. 2019. Molecular mechanisms of CRISPR–Cas spacer acquisition. Nature Reviews Microbiology 17: 7–12. DOI: 10.1038/s41579-018-0071-7

Medema M.H., Blin K., Cimermancic P. et al. 2011. antiSMASH: rapid identification, annotation and analysis of secondary metabolite biosynthesis gene clusters in bacterial and fungal genome sequences. Nucleic Acids Research 39(suppl_2): W339–W346. DOI: 10.1093/nar/gkr466

Musto H., Naya H., Zavala A. et al. 2004. Correlations between genomic GC levels and optimal growth temperatures in prokaryotes. FEBS Letters 573(1-3): 73–77. DOI: 10.1016/j.febslet.2004.07.056

Nagata T., Takai K., Kawanobe K. et al. 1994. Autotrophic picoplankton in southern Lake Baikal: Abundance, growth and grazing mortality during summer. Journal of Plankton Research 16(8): 945–959. DOI: 10.1093/plankt/16.8.945

Okamoto S., Tamaru A., Nakajima C. et al. 2007. Loss of a conserved 7-methylguanosine modification in 16S rRNA confers low-level streptomycin resistance in bacteria. Molecular Microbiology 63(4): 1096–1106. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2006.05585.x

Ondov B.D., Treangen T.J., Melsted P. et al. 2016. Mash: fast genome and metagenome distance estimation using MinHash. Genome Biology 17: 132. DOI: 10.1186/s13059-016-0997-x

Osipova S.V., Bondarenko N.A., Obolkina L.A. et al. 2010. Communities in the ultrapure ice of Lake Baikal: distinctive characteristics and adaptive strategies of ice inhabitants. In: 20th IAHR International Symposium on Ice. Lahti, Finland.

Pancrace C., Gugger M., Calteau A. 2017. Genomics of NRPS/PKS biosynthetic gene clusters in cyanobacteria. In: Los D.A. (Ed.), Cyanobacteria: Omics and Manipulation. Caister Academic Press, pp. 119–140. DOI: 10.21775/9781910510197.07

Pittera J., Humily F., Thorel M. et al. 2014. Connecting thermal physiology and latitudinal niche partitioning in marine *Synechococcus*. The ISME Journal 8(6): 1221–1236. DOI: 10.1038/ismej.2013.228

Rodriguez-Valera F., Martin-Cuadrado A.B., Lopez-Perez M. 2017. Flexible genomic islands as drivers of genome evolution in bacteria. Current Opinion in Microbiology 39: 48–54. DOI: 10.1016/j.mib.2017.09.005

Rosales S.A., Rouse J.D., Pellechia P.J. et al. 2005. Halotolerance of cyanobacteria and their potential for biotechnology applications. Applied and Environmental Microbiology 71(8): 4491–4498. DOI: 10.1128/AEM.71.8.4491-4498.2005

Rusinek O.T. 2009. Baikal Studies. Book 1. Irkutsk: Irkutsk State University Press. (in Russian)

Shapiro B.J., Polz M.F. 2015. Microbial speciation. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology 7(10): a018143. DOI: 10.1101/cshperspect.a018143

Sinkunas T., Gasiunas G., Fremaux C. et al. 2011. Cas3 is a single-stranded DNA nuclease and ATP-dependent helicase in the CRISPR/Cas immune system. The EMBO Journal 30(7): 1335–1342. DOI: 10.1038/emboj.2011.41

Sorek R., Lawrence C.M., Wiedenheft B. 2013. CRISPR-mediated adaptive immune systems in bacteria and archaea. Annual Review of Biochemistry 82: 237–266. DOI: 10.1146/annurev-biochem-072911-172315

Srivastava A., Thapa S., Chakdar H. et al. 2022. Cyanobacterial myxoxanthophylls: biotechnological interventions and biological implications. Critical Reviews in Biotechnology 42(5): 765–780. DOI: 10.1080/07388551.2021.1962791

Stamatakis A. 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. Bioinformatics 30(9): 1312–1313. DOI: 10.1093/bioinformatics/btu033

Stogios P.J., Savchenko A. 2020. Molecular mechanisms of vancomycin resistance. Protein Science 29(3): 654–669. DOI: 10.1002/pro.3819

Wagner G.P., Kin K., Lynch V.J. 2012. Measurement of mRNA abundance using RNA-seq data: RPKM measure is inconsistent among samples. Theory in Biosciences 131(4): 281–285. DOI: 10.1007/s12064-012-0162-3

Wattam A.R., Davis J.J., Assaf R. et al. 2017. Improvements to PATRIC, the all-bacterial Bioinformatics Database and Analysis Resource Center. Nucleic Acids Research 45(D1): D535–D542. DOI: 10.1093/nar/gkw1017

Yang C., Chowdhury D., Zhang Z. et al. 2021. A review of computational tools for generating metagenome-assembled genomes from metagenomic sequencing data. Computational and Structural Biotechnology Journal 19: 6301–6314. DOI: 10.1016/j.csbj.2021.11.028

Yoshida Y., Sekino T., Genkai-Kato M. et al. 2003. Seasonal dynamics of primary production in the pelagic zone of southern Lake Baikal. Limnology 4(1): 53–62. DOI: 10.1007/s10201-002-0089

Zhaxybayeva O., Doolittle W.F., Papke R.T. et al. 2009. Intertwined evolutionary histories of marine *Synechococcus* and *Prochlorococcus marinus*. Genome Biology and Evolution 1: 325–339. DOI: 10.1093/gbe/evp032

Оригинальная статья

Анализ геномов пикоцианобактерий рода *Synechococcus* из озера Байкал

Калюжная О.В., Гутник Д.И., Краснопеев А.Ю., Тихонова И.В., Потапов С.А., Белых О.И.

Лимнологический институт Сибирского отделения Российской Академии наук, ул. Улан-Баторская, 3, г. Иркутск,664033, Россия

АННОТАЦИЯ. Род *Synechococcus* – фотосинтезирующие пикоцианобактерии, которые, как автотрофные микроорганизмы, вносят значительный вклад в продукцию органического вещества и кислорода в морских и пресноводных экосистемах. Широкое распространение представителей рода *Synechococcus* обусловлено их генетическим разнообразием и экологической пластичностью. Особый интерес представляет изучение этих микроорганизмов в уникальных природных экосистемах, таких как озеро Байкал – пресное олиготрофное глубоководное озеро с высоким процентом эндемизма населяющих его видов. В работе проведен анализ двух геномов представителей рода *Synechococcus*, восстановленных из метагеномных данных микробных сообществ воды озера Байкал (MAGs): *Synechococcus* sp. bin7 и *Synechococcus* sp. bin8. Дана структурно-функциональная характеристика геномов, определены гены антибиотикорезистентности и синтеза вторичных метаболитов. Филогенетический анализ, включающий 90 ближайших пресноводных, морских представителей рода *Synechococcus* и исследуемых MAGs, показал, что геномы относятся к разным, достаточно удаленным, филогенетическим кладам.

Ключевые слова: *Synechococcus*, озеро Байкал, метагеномно-собранные геномы (MAGs), филогеномика, антибиотикорезистентность

Для цитирования: Калюжная О.В., Гутник Д.И., Краснопеев А.Ю., Тихонова И.В., Потапов С.А., Белых О.И. Анализ геномов пикоцианобактерий рода *Synechococcus* из озера Байкал // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - С. 554-574. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-554

1. Введение

Цианобактерии рода *Synechococcus* – это доминирующая группа автотрофного пикопланктона в водных экосистемах. Они вносят значительный вклад в первичную продукцию органического вещества и кислорода и служат основой пищевых цепей (Flombaum et al., 2013; Callieri, 2017). Широкое распространение, приспособленность к разным экологическим условиям обитания, высокая численность и малые размеры клеток делают виды *Synechococcus* удобной моделью для изучения экологической и генетической адаптации микроорганизмов (Shapiro and Polz, 2015). Озеро Байкал – уникальная глубоководная экосистема, характеризующаяся высокой степенью эндемизма биоты, низкой температурой воды, не превышающей в пелагиали озера 10–12 ˚С даже в летний период и её исключительной чистотой (Rusinek, 2009; Osipova et al., 2010). Пикоцианобактерии, включая представителей рода *Synechococcus*, играют заметную роль в байкальском планктонном сообществе, особенно в период летней стратификации, когда их численность достигает 10^6 клеток/мл (Belykh and Sorokovikova, 2003; Belykh et al., 2011). Их вклад в первичную продукцию, биомассу фитопланктона и концентрацию хлорофилла в Байкале достигает 80% (Nagata et al., 1994; Yoshida et al., 2003; Belykh and Sorokovikova, 2003).

Исследование генетического разнообразия и филогении цианобактерий представляет значительный научный интерес, поскольку позволяет уточнить их систематическое положение и выявить эволюционные связи между различными таксонами (Komárek et al., 2014; Garcia-Pichel et al., 2019). Способность цианобактерий рода *Synechococcus*

*Автор для переписки. Адрес e-mail: olga@lin.irk.ru (О.В. Калюжная)

Поступила: 10 июля 2026;
Принята после доработки: 12 августа 2026;
Опубликована online: 28 августа 2026

© Автор(ы) 2026. Эта работа распространяется под международной лицензией Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.

колонизировать водоёмы с разной солёностью, температурным режимом и трофностью зависит от их принадлежности к определенной эволюционной линии (Flombaum et al., 2013). Исследования эколого-функциональных особенностей рода *Synechococcus* проведены преимущественно на морских или модельных пресноводных видах, тогда как представители природных популяций из экстремальных и эндемичных экосистем, таких как Байкал, описаны недостаточно (Druce et al., 2023; Chiriac et al., 2023; Cabello-Yeves et al., 2018a; 2018b). Для древних олиготрофных озёр, где *Synechococcus* обеспечивают до 80% первичной продукции, такие данные необходимы для понимания устойчивости экосистемы (Callieri, 2017; Belykh and Sorokovikova, 2003).

Традиционные методы выделения чистых культур цианобактерий трудоёмки и часто не отражают весь спектр генетического разнообразия *in situ*. Альтернативным подходом служит метагеномное секвенирование, позволяющее реконструировать метагеномно-собранные геномы (MAGs) из образцов окружающей среды без культивирования (Yang et al., 2021). Хотя MAGs представляют собой фрагментированные сборки, содержащие отдельные контиги, а не идеальные полные геномы, этот подход дает возможность изучать структурно-функциональную организацию геномов, выявлять ключевые метаболические пути и гены адаптации к абиотическим и биотическим факторам среды, а также оценивать разнообразие и филогенетическое положение представителей природной популяции (Cerk et al., 2024).

Анализ метаболических путей позволяет установить биохимический потенциал микроорганизма, его метаболические ограничения и механизмы адаптации к абиотическим факторам среды. Метаболический профиль определяет спектр усваиваемых соединений, способность к автотрофии, дыханию, ассимиляции нитратов и сульфатов. Реконструкция таких путей по геномным данным даёт возможность прогнозировать зависимость от внешних источников углерода, азота и серы, а также выявлять ключевые узлы регуляции. Сравнение метаболических модулей между штаммами позволяет обнаружить молекулярные основы устойчивости к стрессам, конкурентные преимущества в конкретных местообитаниях и эволюционные тренды редукции или экспансии генов, что важно как для понимания экологической роли *Synechococcus*, так и для оценки их биотехнологического потенциала.

Цель работы – сравнительный анализ структурной организации геномов, адаптивных механизмов и филогенетического положения двух метагеномно-собранных геномов *Synechococcus* sp. bin7 и *Synechococcus* sp. bin8, восстановленных из проб воды озера Байкал, а также оценка их метаболического потенциала. Предполагается, что эти штаммы, обитающие в единой экологической нише, могут демонстрировать геномные различия, отражающие разные адаптивные стратегии.

2. Материалы и методы

Пробы воды объёмом 20 л с каждой глубины (5 и 20 м) были отобраны в июле 2024 г. на середине разреза Листвянка–Танхой (озеро Байкал). Образцы последовательно фильтровали через поликарбонатные фильтры с диаметром пор 5,0 мкм для удаления крупных частиц; 0,4 мкм и 0,22 мкм для сбора пикоцианобактерий. Поэтапную фильтрацию воды, экстракцию ДНК, секвенирование, метагеномную сборку геномов выполняли согласно ранее описанной методике (Gutnik et al., 2024). Для каждой пробы секвенирование выполняли в двух независимых парно-концевых запусках (2×150 п.н.). Суммарный объём сырых данных составил 19,1 Гб для пробы с 5 м и 26,8 Гб для пробы с 20 м; после объединения данных запусков общее количество парных ридов достигло 63,7 млн и 89,3 млн соответственно. Совместная сборка ридов из проб с глубин 5 и 20 м позволила реконструировать MAGs, присутствующих в обеих пробах. Относительное количество восстановленных MAGs в метагеномных пробах по глубинам оценивали с помощью TPM (Transcripts Per Million) (Wagner et al., 2012; Bray et al., 2016). Для аннотации метагеномно-собранных геномов (MAGs) использовали сервис Genome Annotation Service на базе платформы RAST (Aziz et al., 2008) в рамках ресурса Bacterial and Viral Bioinformatics Resource Center (BV-BRC). Для оценки степени родства восстановленных MAGs с известными геномами цианобактерий рассчитывали среднюю нуклеотидную идентичность (ANI) (Jain et al., 2018).

Для анализа филогенетического положения исследуемых MAGs провели поиск наиболее близких общедоступных геномов с помощью инструмента Similar Genome Finder, встроенного в BV-BRC (Ondov et al., 2016), где расстояние между геномами рассчитывается методом Mash. В филогенетический анализ включали геномы, удовлетворявшие пороговым значениям: достоверности (P value) $<0{,}01$ и дистанции (Distance) $<0{,}2$. Всего было выбрано 90 геномов, включая два исследуемых MAGs. В качестве внешней группы (outgroup) для построения дерева использовали геном цианобактерии *Gloeobacter violaceus* PCC 7421 (GCA_000011385.1). Для всех отобранных геномов из 1000 кандидатных PGFam-генов программой были отобраны 127 однокопийных маркеров при допустимом уровне пропусков (не более 5 делеций или не более 5 дупликаций на ген в выборке). Выравнивание соответствующих им белковых последовательностей (127 выравниваний, суммарно 41 816 аминокислотных позиций) выполнили с помощью MAFFT (Katoh and Standley, 2013). На основе отобранных однокопийных белковых маркеров было построено филогенетическое дерево методом максимального правдоподобия; оценку бутстреп-поддержки провели в программе RAxML версии 8.2 (Stamatakis, 2014).

Определение CRISPR-массивов с ассоциированными белками Cas выполняли с помощью Bakta на веб-платформе Proksee (Grant et al., 2023).

Аннотация генов, вовлечённых в чувствительность и устойчивость к противомикробным препаратам, выполнялась путём сравнения с референсными базами данных PATRIC и CARD (Wattam et al., 2017; Alcock et al., 2023).

Поиск биосинтетических кластеров генов вторичных метаболитов в исследуемых геномах выполняли с использованием онлайн-версии программной платформы antiSMASH 8.0.4 (Medema et al., 2011; Blin et al., 2025) с параметрами по умолчанию (уровень строгости HMM-детекции — relaxed). Для оценки сходства обнаруженных генетических локусов с известными кластерами использовали встроенные модули ClusterBlast и KnownClusterBlast. Согласно алгоритмам antiSMASH, для ClusterBlast (сравнение с предсказанными кластерами из базы antiSMASH) применяются пороги минимальной идентичности 30% и покрытия 10%, тогда как для KnownClusterBlast (сравнение с экспериментально подтверждёнными кластерами из базы MIBiG) — 45% и 40% соответственно (Blin et al., 2025).

3. Результаты и обсуждение

3.1. Структурная и функциональная организация MAGs

Собранные на основе метагеномных данных геномы *Synechococcus* sp. bin7 (165 контигов, 2 053 016 п.н.) и *Synechococcus* sp. bin8 (145 контигов, 1 829 603 п.н.) показали достаточно высокую полноту сборки — 97,7% и 96,1% соответственно — и низкий уровень контаминации — 1,8% и 1,2%, что свидетельствует о высоком качестве полученных MAGs (Таблица 1).

Несмотря на то, что оба MAGs выделены из одного местообитания и отнесены к одному роду, содержание G + C у них существенно различается (*Synechococcus* sp. bin7 — 65,87%, *Synechococcus* sp. bin8 — 50,22%), что часто ассоциируется с адаптацией к разным экологическим условиям (Musto et al., 2004). Высокий GC-состав штамма *Synechococcus* sp. bin7 может свидетельствовать о его лучшей адаптации к стрессовым факторам поверхностных вод, таким как интенсивное УФ-излучение и окислительный стресс (Zhaxybayeva et al., 2009).

Оценка относительного обилия по данным метагеномики (TPM, рассчитанный по ДНК) показала, что на глубине 5 м количество генетического материала *Synechococcus* sp. bin7 (48 321 TPM) значительно выше, чем у *Synechococcus* sp. bin8 (11 728 TPM). С увеличением глубины до 20 м относительное обилие обоих штаммов снижается, однако у *Synechococcus* sp. bin7 падение выражено сильнее — в 3,3 раза (до 14 567 TPM), тогда как у *Synechococcus* sp. bin8 — в 1,7 раза (до 6 835 TPM).

Снижение относительного обилия (TPM) с глубиной указывает на то, что *Synechococcus* sp. bin7 приурочен к поверхностным водам, тогда как *Synechococcus* sp. bin8 сохраняет более высокую численность в нижних слоях эуфотической зоны. Таким образом, *Synechococcus* sp. bin7 представляет собой специализированный поверхностно-водный штамм, тогда как *Synechococcus* sp. bin8 демонстрирует более эвритопную стратегию распределения в толще воды, что может отражать различия в экологических нишах у близкородственных цианобактерий (Pittera et al., 2014).

По результатам аннотации исследуемых геномов в базе BV-BRC с использованием набора инструментов RAST, таксономическое положение геномов следующее: домен *Bacteria*, тип *Cyanobacteriota*, класс *Cyanophyceae*, порядок *Synechococcales*, семейство *Synechococcaceae*, род *Synechococcus*. Наиболее близким геномом для *Synechococcus* sp. bin7, согласно средней нуклеотидной идентичности, является байкальский *Synechococcus* sp. Baikal-G1 (ANI 98,78%), а для *Synechococcus* sp. bin8 — *Synechococcus* sp. LacPavin 0920 (ANI 97,75%). Поскольку оба значения превышают общепринятый порог видовой дифференциации (95%), *Synechococcus* sp. bin7 может быть отнесён к тому же виду, что и штамм *Synechococcus* sp. Baikal-G1, а *Synechococcus sp*. bin8 — к тому же виду, что и штамм *Synechococcus* sp. LacPavin 0920 (Jain et al., 2018). Значение средней нуклеотидной идентичности (ANI) между исследуемыми штаммами *Synechococcus* sp. bin7 и *Synechococcus* sp. bin8 составило 68%, что значительно ниже общепринятого порога видовой дифференциации (95%) и подтверждает их принадлежность к разным видам.

Таблица 1. Характеристики метагеномно-собранных геномов (MAGs) *Synechococcus* sp. bin7 и *Synechococcus* sp. bin8

Характеристика	*Synechococcus* sp. bin7	*Synechococcus* sp. bin8
Длина MAG, п.н.	2 053 016	1 829 603
Полнота сборки, %	97,7	96,1
Контаминация, %	1,8	1,2
Содержание G + C, %	65,87	50,22
Число контигов	165	145
N50, п.н.	21 397	22 259
Ближайший геном (номер доступа NCBI)	*Synechococcus* sp. Baikal-G1 (GCA_002737305.1)	*Synechococcus* sp. LacPavin 0920_ WC12 (GCA_026389135.1)
средняя нуклеотидная идентичность, ANI, %	98,78	97,75
TPM (5м)	48 321	11 728
TPM (20м)	14 567	6 835

Основные геномные характеристики штаммов, полученные в результате аннотации с использованием платформы PATRIC, а также распределение кодирующих последовательностей (CDS) по функциональным подсистемам RAST, представлены в Таблице 2.

Общее число выявленных кодирующих последовательностей (CDS) у штамма *Synechococcus* sp. bin7 (2 202) больше на 196 генов, чем у *Synechococcus* sp. bin8 (2 006), тогда как количество тРНК практически идентично (36 и 35 соответственно). При этом плотность CDS на 1 млн п.н. оказалась сопоставимой (1 072,6 у bin7 против 1 096,4 у bin8), что указывает на сходную общую насыщенность геномов генетической информацией, а различия в абсолютных числах связаны преимущественно с бóльшим размером генома bin7.

Наиболее существенные различия между штаммами выявлены в категории энергетического метаболизма. Так, у *Synechococcus* sp. bin7 обнаружено 161 CDS против 84 у *Synechococcus* sp. bin8, что может отражать более разветвлённую сеть энергетического метаболизма, включая, возможно, дополнительные компоненты фотосинтетических или дыхательных цепей (Brown, 2018). Подобное явление согласуется с данными о высокой экологической пластичности представителей рода *Synechococcus* (Callieri, 2017). Также в категориях метаболизма насчитывается 445 генов против 355, процессинга белков — 187 против 135 соответственно. Возможно, данный факт предполагает более широкий метаболический потенциал и более эффективный белковый гомеостаз у *Synechococcus* sp. bin7. Почти двукратное различие в генах мембранного транспорта (15 против 8), вероятно, отражает способность *Synechococcus* sp. bin7 усваивать более широкий спектр питательных веществ из окружающей среды. В категории процессинга ДНК также отмечено большее количество генов у *Synechococcus* sp. bin7 (60 против 44), предполагая наличие в этом геноме большего разнообразия систем репарации, однако для окончательного вывода необходим анализ конкретных генов. Как показано в работе Brown (2018), увеличение числа генов в категориях, связанных с энергетикой и транспортом, часто коррелирует со специализацией к определённым экологическим нишам, что согласуется с данными по распределению относительного обилия штаммов.

При этом в категории клеточных процессов наблюдается обратная картина: у *Synechococcus* sp. bin8 зафиксировано 30 генов против 17 у *Synechococcus* sp. bin7, стрессового ответа (45 против 43), процессинга РНК (48 против 47) и клеточной оболочки (11 против 12). В этих категориях показатели различаются незначительно, что может говорить о сопоставимой адаптации обоих штаммов и отражать сходство базовых механизмов выживания (Martsinechko et al., 2024). Число генов регуляции и клеточной сигнализации (по 3 на каждый MAG) может свидетельствовать о консервативности этих систем у исследуемых пикоцианобактерий.

Выявленные различия в количестве генов энергетического и метаболического обмена хорошо согласуются с данными по распределению относительного обилия (TPM) двух штаммов по глубине. Более высокое содержание генетического материала *Synechococcus* sp. bin7 в поверхностном слое (5 м: 48 321 TPM против 11 728 TPM у bin8) и более резкое его снижение с глубиной (падение в 3,3 раза у *Synechococcus* sp. bin7 против 1,7 раза у *Synechococcus* sp. bin8) указывают на специализацию этого штамма к хорошо освещённой эуфотической зоне. Развитая система энергетического метаболизма (161 против 84 CDS) и мембранного транспорта (15 против 8) у *Synechococcus* sp. bin7, вероятно, обеспечивают эффективную утилизацию световой энергии и захват питательных веществ в олиготрофных поверхностных водах, где конкуренция за ресурсы особенно высока (Flombaum et al., 2013). Напротив, *Synechococcus* sp. bin8, имеющий более скромный набор генов энергетического метаболизма, демонстрирует более стабильное относительное обилие в диапазоне 5–20 м, что может свидетельствовать о его способности существовать при

Таблица 2. Функциональная аннотация геномов *Synechococcus* sp. bin7 и *Synechococcus* sp. bin8

Показатели аннотации (PATRIC)	***Synechococcus* sp. bin7**	***Synechococcus* sp. bin8**
CDS	2202	2006
tRNA	36	35
CDS гены подсистем (RAST)		
Метаболизм	445	355
Процессинг белков	187	135
Стрессовый ответ	45	43
Энергетический метаболизм	161	84
Процессинг РНК	48	47
Процессинг ДНК	60	44
Клеточные процессы	17	30
Клеточная оболочка	11	12
Мембранный транспорт	15	8
Регуляция и клеточная сигнализация	3	3
Число CDS на 1 млн п.н.	1 072,6	1 096,4

пониженной освещённости, характерной для глубин нижней границы эуфотической зоны. Таким образом, геномные различия в метаболическом потенциале отражают дифференциацию экологических ниш по вертикальному градиенту освещённости: *Synechococcus* sp. bin7 — специалист поверхностных вод, тогда как *Synechococcus* sp. bin8 — генералист с более широкой глубинной амплитудой.

Сходство в числе генов антистрессовых систем (45 против 43) подтверждает наличие общих адаптивных стратегий к условиям глубоководного эндемичного озера (Rodriguez-Valera et al., 2017), где факторами отбора могут выступать сезонные колебания температуры, низкая минерализация и высокая прозрачность вод, характерная для Байкала. Повышенное содержание G + C у *Synechococcus* sp. bin7 (65,87%) по сравнению с *Synechococcus* sp. bin8 (50,22%) дополнительно поддерживает гипотезу о лучшей адаптации первого к окислительному стрессу в поверхностных водах с высокой инсоляцией (Zhaxybayeva et al., 2009).

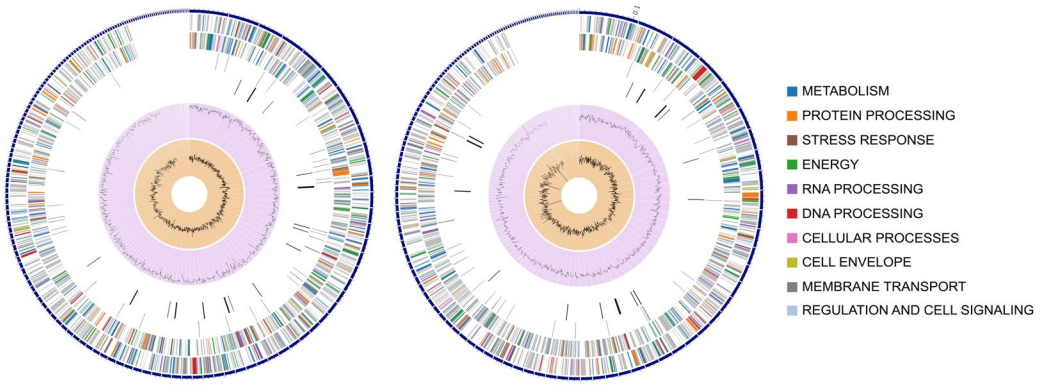
Круговая диаграмма аннотации геномов отражает структурно-функциональную организацию исследуемых MAGs (Рис. 1). От внешнего к внутреннему кольцу на диаграмме отображены: контиги в порядке убывания их длин, CDS на прямой и CDS на обратной нитях, гены РНК, CDS с гомологией к генам антибиотикорезистентности, CDS с гомологией к факторам вирулентности, G + C-состав и G/C-асимметрия на контигах. Цвет CDS на диаграмме соответствует их принадлежности к функциональным подсистемам RAST согласно Таблице 2. Выявленные локусы антибиотикорезистентности и вирулентности относятся к категории генов, ассоциированных с адаптивными признаками микроорганизмов (Bertelli and Brinkman, 2018).

Следует отметить, что интерпретация различий по числу CDS требует осторожности, поскольку часть генов может быть результатом дупликаций, различий в аннотации или наличия псевдогенов в исследуемых MAGs. Тем не менее, выявленные паттерны согласуются с гипотезой о дифференциации экологических ниш двух байкальских штаммов *Synechococcus* по вертикальному градиенту освещённости (Flombaum et al., 2013; Rodriguez-Valera et al., 2017).

3.2. Филогенетический анализ

Филогенетическое дерево, построенное на основе 90 геномов пикоцианобактерий, представлено на Рисунке 2. Анализируемая выборка включала 44 генома пресноводных штаммов, среди которых: исследуемые MAGs *Synechococcus* sp. bin7 и *Synechococcus* sp. bin8 (выделены красным цветом и жирным шрифтом), подгруппа из 7 байкальских MAGs, полученных ранее (фиолетовый цвет), и остальные 35 геномов пресноводных пикоцианобактерий из международных баз данных (зелёный цвет). Морскую группу составили 45 геномов (синий цвет). Значения бутстреп-поддержки указаны на ветвях при уровне более 50%. В качестве внешней группы (outgroup) использован геном Gloeobacter violaceus PCC 7421 (чёрный цвет) — наиболее эволюционно удалённый представитель цианобактерий, занимающий базальное положение на филогенетическом дереве.

Исследуемые байкальские MAGs распределились по двум филогенетически удалённым кладам, различающимся по составу и экологической репрезентативности. *Synechococcus* sp. bin7 локализован в кладе, объединяющей исключительно пресноводные штаммы: *Synechococcus* sp. Baikal-G1 (Байкал), *Synechococcus* sp. UW140 strain MsE-30apr19-67 и *Synechococcus* sp. UW140 MiH-22jul19-245 (Чехия), а также некультивированные *Synechococcus* sp. Umea1p2_bin949 и Umea1p3_bin942 (Швеция). Данный кластер демонстрирует связь с олиготрофными и мезотрофными экосистемами и приуроченность к поверхностным, хорошо освещённым горизонтам, что согласуется с высоким относительным обилием *Synechococcus* sp. bin7 в эвфотической зоне (5 м: 48 321 TPM) (Dvorak et al., 2014; Callieri, 2017). Напротив, *Synechococcus* sp. bin8 вошёл в смешанную кладу, объединяющую как пресноводные, так и морские геномы. Наиболее близкими



Synechococcus sp. bin7 *Synechococcus* sp. bin8

Рис.1. Круговая диаграмма аннотации геномов *Synechococcus* sp. bin7 и *Synechococcus* sp. bin8. От внешнего к внутреннему кругу картированы: контиги исследуемых MAGs, кодирующие последовательности (CDS) на прямой нити, CDS на обратной нити, гены РНК, гены гомологичные известным генам устойчивости к антимикробным препаратам, содержание G + C и асимметрия GC. Масштаб круговой диаграммы – 1 деление 0,1 млн п.н. Цвета CDS на прямой и обратной нити указывают на подсистему генов (согласно легенде).

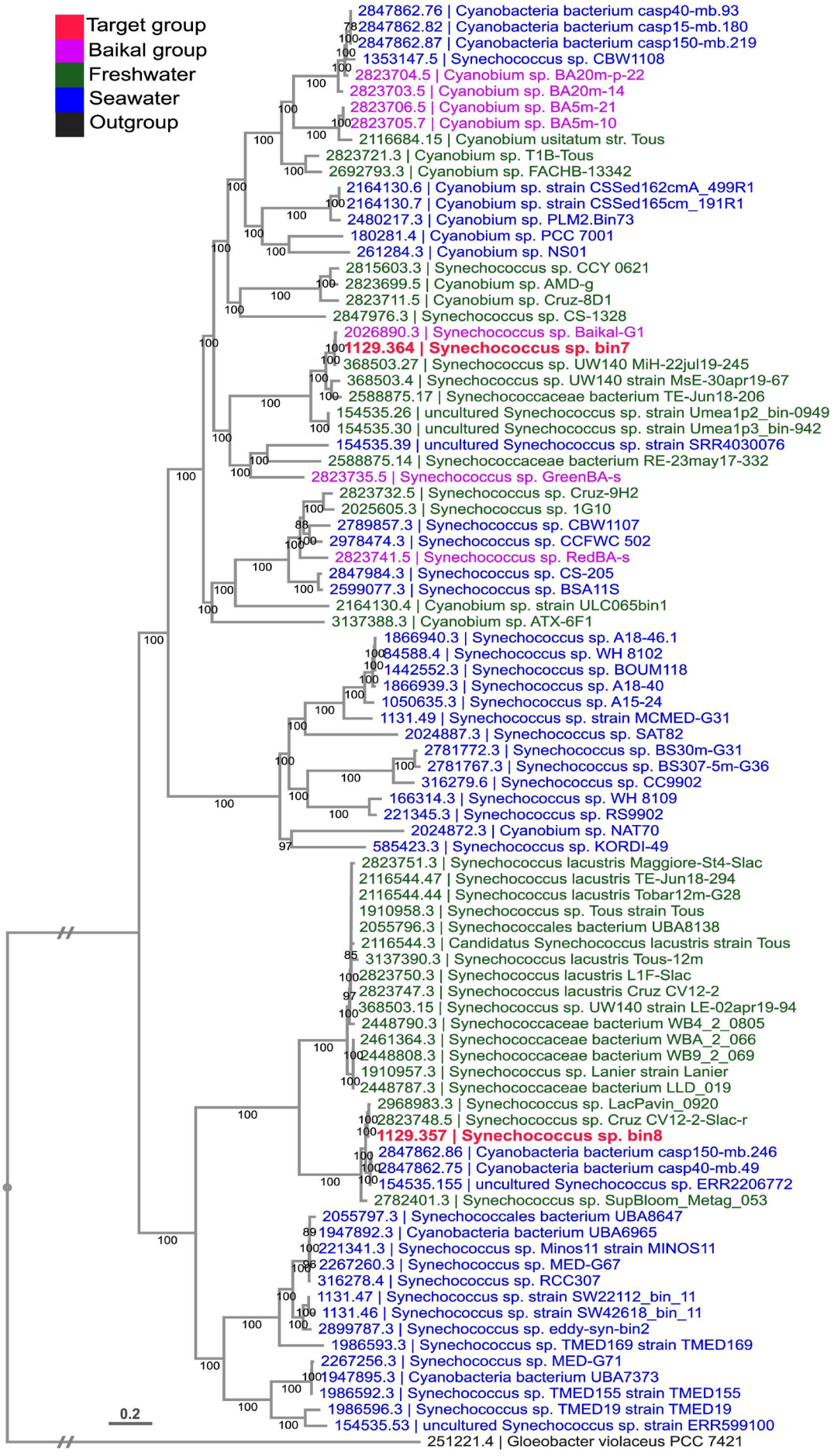


Рис.2. Филогенетическое дерево пикоцианобактерий, построенное на основе 127 однокопийных маркерных генов. Бутстреп-поддержка >50% отмечена на ветвях. Цветами выделены группы: красный – исследуемые MAGs *Synechococcus* sp. bin7 и *Synechococcus* sp. bin8, фиолетовый – байкальские штаммы, зелёный – остальные представители пресноводной группы, синий – группа морских штаммов. Внешняя группа – *Gloeobacter violaceus* PCC 7421.

к нему оказались пресноводные штаммы из озера Павин (*Synechococcus* sp. LacPavin_0920_WC12_MAG_50_7, Франция), озера Ла-Крус (*Synechococcus* sp. Cruz CV12-2-Slac-r, Испания; известен также как *Synechococcus lacustris*), озера Верхнее (*Synechococcus* sp. SupBloom_Metag_053), а также морские штаммы из Каспийского моря (*Cyanobacteria bacterium* casp150_mb.24 и casp40_mb.49) и Балтийского моря (некультивируемый *Synechococcus* sp. ERR2206772_bin.170). Присутствие в этой кладе представителей из водоёмов различного трофического статуса — от ультраолиготрофных до эвтрофных — а также морских форм указывает на более широкую экологическую пластичность данного кластера (Cabello-Yeves et al., 2018b; Carratalà et al., 2023). Это согласуется с относительным обилием *Synechococcus* sp. bin8, которое снижается с глубиной менее резко (всего в 1,7 раза: с 11 728 до 6 835 TPM), что свидетельствует о его способности сохранять метаболическую активность в более широком диапазоне глубин (Pittera et al., 2014; Flombaum et al., 2013).

Род *Synechococcus* является полифилетическим: часть морских штаммов, включённых в анализ и ранее относимых к *Synechococcus*, согласно современным данным, принадлежит к сестринской по отношению к *Prochlorococcus* кладе, валидированной как самостоятельный род *Parasynechococcus* (Coutinho et al., 2016; Komárek et al., 2020). Отбор референсных геномов для анализа выполнен с использованием пороговых значений достоверности и геномной дистанции, рассчитанной методом Mash, а филогенетическое дерево построено на основе однокопийных маркерных генов, что позволяет оценить относительное положение исследуемых MAGs среди доступных референсных геномов и степень их филогенетической удалённости друг от друга.

Значение ANI при сравнении штаммов *Synechococcus* sp. bin7 и *Synechococcus* sp. bin8 составило 68%, что указывает на их принадлежность к разным видам и согласуется с расположением в различных филогенетических кладах. Филогенетическая близость *Synechococcus* sp. bin7 к пресноводным штаммам, а *Synechococcus* sp. bin8 — к смешанной кладе с морскими представителями указывает на их различную эволюционную историю. *Synechococcus* sp. bin7, вероятно, относится к более древней пресноводной линии, тогда как *Synechococcus* sp. bin8 демонстрирует признаки адаптации к условиям переменной солёности либо принадлежит к филогенетической линии, характеризующейся толерантностью к широкому диапазону солёности (Rosales et al., 2005; Cabello-Yeves et al., 2018b; Flombaum et al., 2013).

Присутствие в кладе *Synechococcus* sp. bin8 морских штаммов из Каспийского моря указывает на филогенетическое родство данного штамма с галофильными линиями, что может рассматриваться как косвенное указание на наличие у байкальского штамма генетического потенциала для адаптации к колебаниям солёности. Однако филогенетическое положение само по себе не является доказательством наличия соответствующих адаптивных механизмов, и для подтверждения этой гипотезы необходима идентификация конкретных генов, участвующих в осмотической регуляции (например, транспортеров осмолитов, систем синтеза совместимых растворённых веществ), присутствие которых в геноме *Synechococcus* sp. bin8 требует отдельного анализа. Таким образом, филогенетический анализ подтвердил генетическое разнообразие байкальских *Synechococcus*, а также показал, что эндемичная экосистема озера Байкал, подобно другим глубоким озёрам, служит резервуаром эволюционного разнообразия цианобактерий (Callieri, 2017; Cabello-Yeves et al., 2018a; Carratalà et al., 2023).

3.3. Антибиотикорезистентность и механизмы иммунной защиты

Сравнение двух штаммов *Synechococcus* sp. bin7 и *Synechococcus* sp. bin8 по наличию генов антибиотикорезистентности и систем защиты выявило как консервативные черты, так и их штаммоспецифичные особенности (Таблица 3).

Оба исследуемых генома содержат набор генов-мишеней антибиотиков: *alr*, *ddl*, *gyrA*, *gyrB*, *rpoB*, *EF-G*, *EF-Tu*, *murA*, *folP*, *dxr*, *inhA*, *fabI*, *kasA*, *S10p*, *S12p* и *Iso-tRNA*, кодирующих белки, необходимые для жизнедеятельности клетки: ферменты синтеза клеточной стенки (Alr, Ddl, MurA), ДНК-гиразу (GyrA, GyrB), РНК-полимеразу (RpoB), факторы элонгации трансляции (EF-G, EF-Tu), а также ферменты синтеза фолиевой кислоты (FolP) и жир-

Таблица 3. Гены чувствительности и устойчивости к противомикробным препаратам и системы CRISPR-Cas по данным PATRIC и CARD

Механизм устойчивости	*Synechococcus* sp. bin7	*Synechococcus* sp. bin8
Мишени антибиотиков	*alr, ddl, dxr, EF-G, EF-Tu, folP, gyrA, gyrB, inhA, fabI, Iso-tRNA, kasA, murA, rpoB, S10p, S12p*	*alr, ddl, dxr, EF-G, EF-Tu, folP, gyrA, gyrB, inhA, fabI, Iso-tRNA, kasA, murA, rpoB, S10p, S12p*
Ген, утрата которого даёт устойчивость	*gidB*	*gidB*
Устойчивость к гликопептидам (CARD)	*vanY*, *vanT*	*vanY*, *vanT*
CRISPR-Cas (нуклеазы/геликазы)	*cas3* (тип I)	*cas3* (тип I), *cas4* (типы I–II)

ных кислот (InhA, FabI, KasA). Именно на работу этих белков направлено действие большинства антибиотиков, поэтому присутствие соответствующих генов указывает на сохранность естественной чувствительности цианобактерий к противомикробным препаратам при условии отсутствия мутаций, снижающих аффинность связывания (Blair et al., 2015; Callieri, 2017).

У обоих штаммов обнаружен ген *gidB*, кодирующий метилтрансферазу GidB, которая модифицирует 16S рРНК, обеспечивая правильную сборку рибосомы. При инактивации *gidB* метилирование 16S рРНК нарушается, рибосома изменяет конформацию, и аминогликозидные антибиотики теряют способность с ней связываться. Таким образом, утрата функции GidB случайным образом даёт клетке устойчивость к аминогликозидам (Okamoto et al., 2007).

Гены гликопептидной устойчивости *vanY* и *vanT* присутствуют у обоих штаммов. Ген *vanY* кодирует D,D-карбоксипептидазу, которая гидролизует концевой D-аланин у чувствительных предшественников клеточной стенки (UDP-MurNAc-пентапептид [D-Ala]), снижая их внутриклеточный пул и тем самым способствуя устойчивости к гликопептидам (Arthur and Quintiliani, 2001). Ген *vanT* кодирует мембраносвязанную сериновую рацемазу, которая превращает L-серин в D-серин — субстрат для синтеза устойчивых к ванкомицину предшественников, терминальный дипептид которых содержит D-аланин-D-серин (VanG-тип устойчивости) (Stogios and Savchenko, 2020). Однако для подтверждения функциональной активности этих генов у байкальских штаммов *Synechococcus* необходимы дополнительные экспериментальные исследования.

Анализ систем CRISPR-Cas выявил следующие различия. CRISPR-Cas представляет собой адаптивную иммунную систему бактерий, которая хранит фрагменты ДНК ранее атаковавших вирусов (спейсеры) и при повторной инфекции разрезает вирусную ДНК. У обоих штаммов обнаружен ген *cas3* I типа. Белок Cas3 обладает одновременно геликазной и нуклеазной активностью: он разматывает двухцепочечную ДНК вируса и разрезает её, обеспечивая эффекторную стадию иммунитета (Sinkunas et al., 2011). В геноме штамма *Synechococcus* sp. bin8 дополнительно присутствует ген *cas4*, относящийся к типам I–II. Белок Cas4 участвует на стадии адаптации: он помогает отличить чужеродную ДНК от собственной и облегчает интеграцию новых спейсеров в CRISPR-массив (McGinn and Marraffini, 2019).

Таким образом, *Synechococcus* sp. bin8 отличается от *Synechococcus* sp. bin7 наличием дополнительного гена *cas4*, что предполагает более сложную систему адаптивного иммунитета у данного штамма. Эти различия, на фоне филогенетической обособленности штаммов друг от друга (результаты представлены в разделе 3.2), отражают геномное разнообразие *Synechococcus* (Martsinechko et al., 2024; Flombaum et al., 2013). Можно предположить, что наличие *cas4* у *Synechococcus* sp. bin8 обеспечивает более эффективную защиту от бактериофагов, что может быть важным фактором выживаемости в байкальском планктоне, где вирусный пресс значителен (Sorek et al., 2013; Rodriguez-Valera et al., 2017).

3.4. Биосинтетические кластеры вторичных метаболитов

Анализ с использованием antiSMASH выявил в геномах исследуемых штаммов несколько биосинтетических кластеров вторичных метаболитов, представленных в Таблице 4. В MAG *Synechococcus* sp. bin7 обнаружен терпеновый кластер, включающий гены *PSY/CrtB* и *PT_FPPS*_like, а также поликетидный кластер III типа (T3PKS). В MAG *Synechococcus* sp. bin8 идентифицированы аналоги терпеновых генов (*lycopene cyclase*, *FPPS*, *PSY/CrtB*), PKS-кластер III типа (T3PKS) и NRPS-кластер с *CDPS* (циклодипептид-синтазой).

Присутствие гена *PSY/CrtB* у обоих штаммов и *lycopene cyclase* у *Synechococcus* sp. bin8 указывает на наличие каротиногенного пути, обеспечивающего защиту клеток от окислительного стресса (Srivastava et al., 2022). Поликетидные кластеры III типа (T3PKS) катализируют конденсацию малонил-КоА с ацил-КоА-праймерами с образованием ароматических поликетидов, включая алкилрезорцины и флороглюцины (Abe and Morita, 2010; Austin and Noel, 2003). Обнаруженные T3PKS-кластеры проявляют сходство с известным кластером hierridin B/C, отвечающим за биосинтез поликетидов у цианобактерий (Leão et al., 2019).

Вторичные метаболиты цианобактерий играют ключевую роль в межвидовых взаимодействиях, защите от абиотических и биотических стрессов, а также в формировании структуры микробных сообществ (Dittmann et al., 2015). Выявленная гетерогенность биосинтетических кластеров между двумя штаммами отражает метаболическое разнообразие рода *Synechococcus*, что может определять дифференциацию экологических ниш и конкурентные стратегии в природных микробных сообществах. Наличие уникального NRPS-кластера с *CDPS* только у штамма *Synechococcus* sp. bin8 позволяет

Таблица 4. Основные гены биосинтетических кластеров вторичных метаболитов в геномах исследуемых MAGs, выявленные с помощью анализа antiSMASH

Кластер	*Synechococcus* sp. bin7	*Synechococcus* sp. bin8
Terpene	*PSY/CrtB*, *PT_FPPS*_like	*lycopene cyclase*, *FPPS*, *PSY/CrtB*
PKS	*T3PKS*	*T3PKS*
NRPS	—	*CDPS*

предположить его способность к продукции биоактивных пептидов, что, согласно исследованиям, может предоставлять этому штамму конкурентное преимущество в специфических экологических условиях (Cimermancic et al., 2014; Pancrace et al., 2017). Продукция вторичных метаболитов, таких как терпены и поликетиды, согласно литературным данным, обеспечивает защиту от фотодеградации, антимикробную активность и аллелопатическое воздействие на другие микроорганизмы, что особенно важно в условиях высокой прозрачности и низкой трофности байкальской воды (Kust et al., 2018). Обнаруженные гены, ассоциированные с биосинтезом терпенов, поликетидов и NRPS, указывают на потенциальную способность штаммов к продукции биоактивных соединений, что открывает перспективы для их возможного применения в фармакологии, биоремедиации и других биотехнологических областях (Dittmann et al., 2015; Pancrace et al., 2017).

4. Заключение

Применение метагеномного подхода позволило реконструировать и провести сравнительный анализ геномов природных популяций пикоцианобактерий рода *Synechococcus* из озера Байкал. Озеро Байкал относится к глубоководным олиготрофным водоёмам с устойчиво низкими температурами воды. В пелагической зоне представители данного рода продуцируют до 80% органического вещества в ходе первичного синтеза. Оба восстановленных MAGs характеризовались высокой полнотой сборки (97,7% и 96,1%) и низким уровнем контаминации, что подтверждает их высокое качество. Филогенетический анализ выявил принадлежность исследуемых штаммов к двум удалённым кладам, что свидетельствует о длительной эволюционной дивергенции в пределах одного биотопа. Штамм *Synechococcus* sp. bin7 относится к пресноводной кладе, тогда как *Synechococcus* sp. bin8 принадлежит к смешанной кладе, содержащей также геномы морских штаммов. Дополнительно в геномах идентифицированы гены, ассоциированные со стрессовым ответом, антибиотикорезистентностью и системами CRISPR-Cas. В геномах обнаружены гены, ассоциированные с устойчивостью к антибиотикам (в том числе консервативные *vanY/vanT*) и системы CRISPR-Cas, что характерно для пресноводных цианобактерий. Выявленные различия в метаболическом потенциале, включая более развитую систему энергетического метаболизма и мембранного транспорта у *Synechococcus* sp. bin7, а также наличие штаммоспецифичного гена *cas4* у *Synechococcus* sp. bin8, отражают дифференциацию экологических ниш по вертикальному градиенту освещённости и конкурентные стратегии в олиготрофных условиях. Выявленные гены, ассоциированные с синтезом терпенов, поликетидов и нерибосомных пептидов, позволяют предположить наличие у исследованных штаммов биотехнологического потенциала, который после дополнительного изучения может найти применение в фармакологии и биоремедиации. Следует подчеркнуть, что все выводы относительно антибиотикорезистентности и биосинтетического потенциала основаны на геномных данных и носят предсказательный характер, требующий экспериментальной верификации. Полученные результаты расширяют существующие представления о геномном разнообразии, экологической пластичности и молекулярных механизмах адаптации пресноводных пикоцианобактерий в эндемичной экосистеме озера Байкал.

Благодарности

Работа выполнена при поддержке гос. темы ЛИН СО РАН № FWSR-2026-0004 1023032700318-2-1.6.2

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

Abe I., Morita H. 2010. Structure and function of the chalcone synthase superfamily of plant type III polyketide synthases. Natural Product Reports 27(6): 809–838. DOI: 10.1039/b909988n

Alcock B.P., Huynh W., Chalil R. et al. 2023. CARD 2023: expanded curation, support for machine learning, and resistome prediction at the Comprehensive Antibiotic Resistance Database. Nucleic Acids Research 51(D1): D690–D699. DOI: 10.1093/nar/gkac920

Arthur M., Quintiliani R. 2001. Regulation of VanA- and VanB-type glycopeptide resistance in enterococci. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 45(2): 375–381. DOI: 10.1128/AAC.45.2.375-381.2001

Austin M.B., Noel J.P. 2003. The chalcone synthase superfamily of type III polyketide synthases. Natural Product Reports 20(1): 79–110. DOI: 10.1039/b100917f

Aziz R.K., Bartels D., Best A.A. et al. 2008. The RAST Server: rapid annotations using subsystems technology. BMC Genomics 9: 75. DOI: 10.1186/1471-2164-9-75

Belykh O.I., Sorokovikova E.G. 2003. Autotrophic picoplankton in Lake Baikal: Abundance, dynamics, and distribution. Aquatic Ecosystem Health & Management 6(3): 251–261. DOI: 10.1080/14634980301489

Belykh O.I., Tikhonova I.V., Sorokovikova Ye.G. et al. 2011. Picoplankton Cyanoprokaryota of Genera *Synechococcus* Nägeli and *Cyanobium* Rippka et Cohen-Baz. from Lake Baikal (Russia). International Journal on Algae 13(2): 149–163. DOI: 10.1615/InterJAlgae.v13.i2.50

Bertelli C., Brinkman F.S.L. 2018. Improved genomic island predictions with IslandViewer 4. Nucleic Acids Research 46(W1): W26–W30. DOI: 10.1093/nar/gky376

Blair J.M.A., Webber M.A., Baylay A.J. et al. 2015. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. Nature Reviews Microbiology 13: 42–51. DOI: 10.1038/nrmicro3380

Blin K., Shaw S., Weber T. 2025. antiSMASH 8.0: extended gene cluster detection capabilities and analyses of chemistry, enzymology, and regulation. Nucleic Acids Research 53(W1): W32–W38. DOI: 10.1093/nar/gkae1110

Bray N.L., Pimentel H., Melsted P. et al. 2016. Near-optimal probabilistic RNA-seq quantification. Nature Biotechnology 34(5): 525–527. DOI: 10.1038/nbt.3519

Brown T.A. 2018. Genomes 4. 4th ed. New York: Garland Science. DOI: 10.1201/9781315226828

Cabello-Yeves P.J., Haro-Moreno J.M., Martin-Cuadrado A.B. et al. 2018. Novel Synechococcus genomes reconstructed from freshwater reservoirs unravel ecological and genomic differentiation. Scientific Reports 8(1): 1109. DOI: 10.1038/s41598-018-19227-0

Cabello-Yeves P.J., Picazo A., Camacho A. et al. 2018. Ecological and genomic features of two widespread freshwater picocyanobacteria. Environmental Microbiology 20(10): 3757–3771. DOI: 10.1111/1462-2920.14377

Callieri C. 2017. *Synechococcus* plasticity under environmental changes. FEMS Microbiology Letters 364(23): fnx229. DOI: 10.1093/femsle/fnx229

Carratalà A., Chappelier C., Selmoni O. et al. 2023. Vertical distribution and seasonal dynamics of planktonic cyanobacteria communities in a water column of deep mesotrophic Lake Geneva. Frontiers in Microbiology 14: 1295193. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1295193

Cerk K., Ugalde-Salas P., Nedjad C.G. et al. 2024. Community-scale models of microbiomes: Articulating metabolic modelling and metagenome sequencing. Microbial Biotechnology 17(1): e14396. DOI: 10.1111/1751-7915.14396

Chiriac M.C., Haber M., Salcher M.M. 2023. Adaptive genetic traits in pelagic freshwater microbes. Environmental Microbiology 25(3): 606–641. DOI: 10.1111/1462-2920.16340

Cimermancic P., Medema M.H., Claesen J. et al. 2014. Insights into secondary metabolism from a global analysis of prokaryotic biosynthetic gene clusters. Cell 158(2): 412–421. DOI: 10.1016/j.cell.2014.06.034

Coutinho F., Theodorou M.C., Antunes A. 2016. Comparative genomics of Synechococcus and Prochlorococcus: a review. Journal of Marine Science and Engineering 4(4): 78. DOI: 10.3390/jmse4040078

Dittmann E., Gugger M., Sivonen K. et al. 2015. Natural product biosynthetic diversity and comparative genomics of the cyanobacteria. Trends in Microbiology 23(10): 642–652. DOI: 10.1016/j.tim.2015.07.008

Druce E., Chiriac M.C., Sánchez P. et al. 2023. Metagenomic insights into the evolution and adaptive strategies of cyanobacteria from freshwater to marine environments. Environmental Microbiology 25(4): 789–805. DOI: 10.1111/1462-2920.16340

Dvorak P., Casamatta D.A., Poulickova A. et al. 2014. *Synechococcus*: 3 billion years of global dominance. Molecular Ecology 23(22): 5538–5551. DOI: 10.1111/mec.12948

Flombaum P., Gallegos J.L., Gordillo R.A. et al. 2013. Present and future global distributions of the marine Cyanobacteria *Prochlorococcus* and *Synechococcus*. Proceedings of the National Academy of Sciences USA 110(24): 9824–9829. DOI: 10.1073/pnas.1307701110

Garcia-Pichel F., Lombard M.A., Soule T. et al. 2019. Cyanobacterial exopolysaccharides: composition, structure, and ecological significance. In: Mishra A.K., Tiwari D.N., Rai A.N. (Eds.), Cyanobacteria: From Basic Science to Applications. Academic Press, pp. 77–98. DOI: 10.1016/B978-0-12-814667-5.00004-0

Grant J.R., Enns E., Marinier E. et al. 2023. Proksee: in-depth characterization and visualization of bacterial genomes. Nucleic Acids Research 51(W1): W484–W492. DOI: 10.1093/nar/gkad326

Gutnik D.I., Potapov S.A., Krasnopeev A.Y. et al. 2024. Characterization of *Saccharimonadia* bacteria in Lakes Baikal and Khubsugul: taxonomic and functional diversity. Limnology and Freshwater Biology 4: 908–924. DOI: 10.31951/2658-3518-2024-A-4-908

Jain C., Rodriguez-R L.M., Phillippy A.M. et al. 2018. High throughput ANI analysis of 90K prokaryotic genomes reveals clear species boundaries. Nature Communications 9(1): 5114. DOI: 10.1038/s41467-018-07641-9

Katoh K., Standley D.M. 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. Molecular Biology and Evolution 30(4): 772–780. DOI: 10.1093/molbev/mst010

Komárek J., Kaštovský J., Mareš J. et al. 2014. Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera) 2014, using a polyphasic approach. Preslia 86(4): 295–335.

Komárek J., Johansen J.R., Šmarda J. et al. 2020. Phylogeny and taxonomy of Synechococcus-like cyanobacteria. Fottea 20(2): 123–134. DOI: 10.5507/fot.2020.006

Kust A., Khmelnitsky M., Miroshnikov A. et al. 2018. Secondary metabolites of cyanobacteria from Lake Baikal. Limnology and Freshwater Biology 1: 46–52.

Leão P.N., Nakamura H., Costa M. et al. 2019. Structure of Hierridin C, Synthesis of Hierridins B and C, and Evidence for Prevalent Alkylresorcinol Biosynthesis in Picocyanobacteria. Journal of Natural Products 82(3): 572–578. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.8b01038

Martsinechko A.S., Chebykin E.P., Chebunina N.S. et al. 2024. Assessment of the water quality of Lake Baikal and its tributaries in areas affected by local pollution based on microbiological and hydrochemical data. Limnology and Freshwater Biology 4: 998–1004. DOI: 10.31951/2658-3518-2024-A-4-998

McGinn J., Marraffini L.A. 2019. Molecular mechanisms of CRISPR–Cas spacer acquisition. Nature Reviews Microbiology 17: 7–12. DOI: 10.1038/s41579-018-0071-7

Medema M.H., Blin K., Cimermancic P. et al. 2011. antiSMASH: rapid identification, annotation and analysis of secondary metabolite biosynthesis gene clusters in bacterial and fungal genome sequences. Nucleic Acids Research 39(suppl_2): W339–W346. DOI: 10.1093/nar/gkr466

Musto H., Naya H., Zavala A. et al. 2004. Correlations between genomic GC levels and optimal growth temperatures in prokaryotes. FEBS Letters 573(1-3): 73–77. DOI: 10.1016/j.febslet.2004.07.056

Nagata T., Takai K., Kawanobe K. et al. 1994. Autotrophic picoplankton in southern Lake Baikal: Abundance, growth and grazing mortality during summer. Journal of Plankton Research 16(8): 945–959. DOI: 10.1093/plankt/16.8.945

Okamoto S., Tamaru A., Nakajima C. et al. 2007. Loss of a conserved 7-methylguanosine modification in 16S rRNA confers low-level streptomycin resistance in bacteria. Molecular Microbiology 63(4): 1096–1106. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2006.05585.x

Ondov B.D., Treangen T.J., Melsted P. et al. 2016. Mash: fast genome and metagenome distance estimation using MinHash. Genome Biology 17: 132. DOI: 10.1186/s13059-016-0997-x

Osipova S.V., Bondarenko N.A., Obolkina L.A. et al. 2010. Communities in the ultrapure ice of Lake Baikal: distinctive characteristics and adaptive strategies of ice inhabitants. In: 20th IAHR International Symposium on Ice. Lahti, Finland.

Pancrace C., Gugger M., Calteau A. 2017. Genomics of NRPS/PKS biosynthetic gene clusters in cyanobacteria. In: Los D.A. (Ed.), Cyanobacteria: Omics and Manipulation. Caister Academic Press, pp. 119–140. DOI: 10.21775/9781910510197.07

Pittera J., Humily F., Thorel M. et al. 2014. Connecting thermal physiology and latitudinal niche partitioning in marine *Synechococcus*. The ISME Journal 8(6): 1221–1236. DOI: 10.1038/ismej.2013.228

Rodriguez-Valera F., Martin-Cuadrado A.B., Lopez-Perez M. 2017. Flexible genomic islands as drivers of genome evolution in bacteria. Current Opinion in Microbiology 39: 48–54. DOI: 10.1016/j.mib.2017.09.005

Rosales S.A., Rouse J.D., Pellechia P.J. et al. 2005. Halotolerance of cyanobacteria and their potential for biotechnology applications. Applied and Environmental Microbiology 71(8): 4491–4498. DOI: 10.1128/AEM.71.8.4491-4498.2005

Rusinek O.T. 2009. Baikal Studies. Book 1. Irkutsk: Irkutsk State University Press. (in Russian)

Shapiro B.J., Polz M.F. 2015. Microbial speciation. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology 7(10): a018143. DOI: 10.1101/cshperspect.a018143

Sinkunas T., Gasiunas G., Fremaux C. et al. 2011. Cas3 is a single-stranded DNA nuclease and ATP-dependent helicase in the CRISPR/Cas immune system. The EMBO Journal 30(7): 1335–1342. DOI: 10.1038/emboj.2011.41

Sorek R., Lawrence C.M., Wiedenheft B. 2013. CRISPR-mediated adaptive immune systems in bacteria and archaea. Annual Review of Biochemistry 82: 237–266. DOI: 10.1146/annurev-biochem-072911-172315

Srivastava A., Thapa S., Chakdar H. et al. 2022. Cyanobacterial myxoxanthophylls: biotechnological interventions and biological implications. Critical Reviews in Biotechnology 42(5): 765–780. DOI: 10.1080/07388551.2021.1962791

Stamatakis A. 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. Bioinformatics 30(9): 1312–1313. DOI: 10.1093/bioinformatics/btu033

Stogios P.J., Savchenko A. 2020. Molecular mechanisms of vancomycin resistance. Protein Science 29(3): 654–669. DOI: 10.1002/pro.3819

Wagner G.P., Kin K., Lynch V.J. 2012. Measurement of mRNA abundance using RNA-seq data: RPKM measure is inconsistent among samples. Theory in Biosciences 131(4): 281–285. DOI: 10.1007/s12064-012-0162-3

Wattam A.R., Davis J.J., Assaf R. et al. 2017. Improvements to PATRIC, the all-bacterial Bioinformatics Database and Analysis Resource Center. Nucleic Acids Research 45(D1): D535–D542. DOI: 10.1093/nar/gkw1017

Yang C., Chowdhury D., Zhang Z. et al. 2021. A review of computational tools for generating metagenome-assembled genomes from metagenomic sequencing data. Computational and Structural Biotechnology Journal 19: 6301–6314. DOI: 10.1016/j.csbj.2021.11.028

Yoshida Y., Sekino T., Genkai-Kato M. et al. 2003. Seasonal dynamics of primary production in the pelagic zone of southern Lake Baikal. Limnology 4(1): 53–62. DOI: 10.1007/s10201-002-0089

Zhaxybayeva O., Doolittle W.F., Papke R.T. et al. 2009. Intertwined evolutionary histories of marine *Synechococcus* and *Prochlorococcus marinus*. Genome Biology and Evolution 1: 325–339. DOI: 10.1093/gbe/evp032

Original Article
LIMNOLOGY FRESHWATER BIOLOGY

Artificial intelligence and modelling in hydrobiological research

Sysova E.A.*

Belarusian State University, Nezavisimosti Avenue, 4, Minsk, 220030, Belarus

ABSTRACT. Information technology is essential for the advancement of science. Every day, scientists across all fields face overwhelming data volumes that exceed manual processing capabilities. Mathematical models and artificial intelligence (AI) are introduced as a necessary component for processing environmental information. Environmental AI is used mainly for environmental monitoring, hazard toxicology forecasting, and robotic systems aimed at high sampling depth accuracy. A comparative analysis of convolution neural network (CNN) models shows their potential for successful identification of algal species with sufficient illustrative data for successful machine learning. We systematized the application of modern research methods using AI and mathematical modeling in hydrobiology.

Keywords: machine learning, microalgae classification, artificial intelligence (AI), mathematical model of hydrobiology, convolution neural network (CNN)

For citation: Sysova E.A. Artificial intelligence and modelling in hydrobiological research // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - P. 575-583. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-575

1. Introduction

Environmental problems are of special attention in the general list of urgent tasks addressed through mathematical modeling. The heavy exploitation of natural resources causes an increase in anthropogenic impact on the environment. Material production processes lead to a violation of the ecological balance both locally in certain areas and globally. The need to combat anthropogenic eutrophication of reservoirs and their global pollution has stimulated a wide range of research in limnology, mathematical modeling, and economics concerning the problems of conservation, restoration, and efficient use of natural resources of lakes and artificial reservoirs. Studies today inherently require mathematical processing of their findings. This entails calculating the volumes of the investigated objects, statistically analyzing the results, and creating predictive or simulation models to understand the dynamics of the phenomena. Hydrobiologist A.I. Bakanov compiled a bibliographic list of authors who employ quantitative methods in ecology and hydrobiology, including 4460 references (Quantitative methods, 2005). In 2003, Shitikov et al. postulated that AI application methods are a necessary component of environmental data processing. The extensive use of AI capabilities substantially facilitates the selection of hydrobiological samples from different-sized water bodies and improves mathematical models for predicting ecological processes, which is increasingly relevant as anthropogenic pressures on the environment intensify (Glushchenko and Piguz, 2011). Main research involving AI techniques focuses on environmental monitoring, robotic systems, mathematical modeling of natural processes, and man-made disasters, which are virtually impossible to predict.

The aim of this study is to systematize the directions of the application of modern research methods involving AI and mathematical modeling in hydrobiology.

2. Materials and methods

In order to organize the main areas of hydrobiological research, where methods of mathematical modeling and artificial intelligence are most actively applied, a search for scientific articles was conducted. Keywords such as ‘artificial intelligence in hydrobiol-

*Corresponding author. E-mail address: sysovaelena@mail.ru (E.A. Sysova)

Received: June 30, 2026;
Accepted after revised: August 14, 2026;
Available online: August 28, 2026

© Author(s) 2026. This work is distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

ogy' and 'methods of artificial intelligence in hydrobiology' were searched in major scientific databases, including scholar.google.com, scopus.com, and sciencedirect.com. The found documents were grouped into several areas, focusing on the following issues: classification of species of algae, ecological monitoring, and mathematical modeling of hydrobionic development.

AI techniques such as machine learning, deep learning, and vision transformers are employed for addressing crucial environmental challenges, including species identification, habitat modeling, environmental risk assessment, remote sensing analysis, and biodiversity conservation (Miller et al., 2025).

The main neural network architectures used in hydrobiology, depending on the tasks, were grouped as follows (Table 1).

As shown in Table 1, CNN is the main architecture used in different fields of hydrobiology. A convolutional neural network (CNN) is a type of feedforward neural network that learns features via filter (or kernel) optimization. This type of deep learning network was used to process and make predictions for various types of data, including text, images, and audio (LeCun et al., 2015).

Over the past 20 years, artificial intelligence (AI) applications in hydrobiology have transformed from single experiments to a fundamental tool. The number of relevant scientific publications has increased significantly since 2000, including research using machine learning algorithms.

3. Results and discussion

In hydrobiology, mathematical models and artificial intelligence (AI) are introduced as a necessary component for processing environmental information. According to some authors, the main AI areas in ecology are environmental monitoring, forecasting hazardous toxicological processes, and robotic systems aimed at sampling depths with high accuracy. Analysis of the history of models in aquatic ecosystems demonstrates continuous improvement of the mathematical apparatus used in hydroecological studies, thanks to the development of modern computing technology, which allows reducing errors in calculations. The use of AI in hydrobiology covers marine and freshwater ecosystems, from simple data processing to complex forecasting (Table 2).

Neuronetworks (e.g. LSTM models) in freshwater ecosystems can analyze temperature, phosphorus, and nitrogen levels to predict an outbreak of blue-green algae (cyanobacteria) that emit dangerous toxins within 7-14 days. Computer vision models allow the sorting and determination of riverine invertebrates (spring larvae) to calculate environmental quality indices. Machine learning algorithms can process environmental DNA (eDNA) samples of rivers to identify invasive species at the early penetration stage.

In marine ecosystems, AI is being trained to process multispectral satellite imagery (Sentinel, Landsat) to assess chlorophyll concentration and to map ice fields and ocean-scale macroalgae dynamics. The CNN can continuously analyze audio signal flows from hydrophones. They separate the ships' noises from the sound-sounding whales, orcas, and dolphins that can be used during the migration of rare animals. AI integrated into the on-board submarine drone computers (ANPA) allows for scanning coral reefs and automatically detecting coral bleaching zones or outbreaks of predators (such as crown-of-thorns starfish).

AI in hydrobiology is shifting from point studies to global ecosystem monitoring. Neural networks automate species recognition, predict algal blooms, and associate bioindicators with water quality. Convolutional neural networks (CNNs) are used to recognize plankton, benthos, and fish in underwater photographic and video materials, as well as in the analysis of hydroacoustic data. Machine learning is used to analyze eDNA. Models compare genetic data with arrays of biological sequences for rapid biodiversity assessment. AI based on satellite imagery and sensor data (IoT) predicts the spread of harmful algae. Such systems can function as an early warning system for environmental threats. Hybrid models estimate the anthropogenic load on water bodies by modeling the impact of pollution on trophic structures. The concepts of digital water bodies are being developed, where hydrobiological data is combined with physical models of the aquatic environment (flow velocity and temperature). Although these approaches substantially accelerate data processing, they are limited by the absence of standardized sample sizes and regional data differences.

According to analysis using the ScienceDirect search engine, the number of publications covering AI applications in hydrobiology has increased significantly in recent years (Fig. 1a).

Table 1. Neural network architecture in hydrobiology

Task	Architecture
Plankton classification	CNN (ResNet, VGG, AlexNet), Vision Transformers, MobileNet
Fish and invertebrate dentification	YOLO, Faster R-CNN, ResNet, SE-ResNet, CNN + Transfer Learning
Water plant recognition	YOLOv8, DenseNet, Faster R-CNN
HAB prognosis	CNN, LSTM, GRU, ConvLSTM, Transformers
Water quality	ANN (MLP), CNN, LSTM
Toxicology	CNN (video), RNN/LSTM (time-series)
Bioacoustics	CNN (spectrogram), RNN
Habitat modeling	CNN, Random Forest, Reinforcement Learning
Hydrological modelling	LSTM, GRU, Graph Neural Networks, STGNN

Table 2. AI methods in ecosystem research

Application scope	Freshwater ecosystems	Marine ecosystems
Sources	IoT sensors and UAV eDNA	Satellites, hydroacoustic buoys, underwater ANPA
Bloom monitoring	Forecasting cyanobacterial development	Monitoring of the «red tides»
Biodiversity analysis	Classification of river fauna and water purity indicators	Recognition of cetaceans by sound, mapping coral reefs
Anthropogenic load	Detection of point-to-point wastewater discharges and field	Run-off Illegal Catch Control (IUU), tracking plastic debris

The main research areas that most actively use AI methods include ecological monitoring, mathematical modeling of hydrobiological processes, classification of species of algae and other hydrobionts, detection of algae bloom spots, and analysis of environmental microplastic pollution. Below, we describe the development of these areas in more detail.

3.1. Monitoring

The application of AI for environmental monitoring can provide a continuous analysis of water quality, detection of spills of polluting chemicals, and prediction of floods or other environmentally damaging phenomena. The sustainable management of water cycles is crucial in terms of climate change and global warming. It involves managing global, regional, and local water cycles, as well as urban, agricultural, and industrial water cycles, to conserve water resources and their relationships with energy, food, microclimates, biodiversity, ecosystem functioning, and anthropogenic activities. Quantitative estimation is a key and challenging issue in water quality monitoring. Sun et al. (2024) stated that AI, with its powerful autonomous learning capabilities and ability to solve complex problems, can deal with the nonlinear relationships between different spectral bands' apparent optical properties and various water quality parameter concentrations. Exploring more water quality parameters with remote sensing technology and AI, intensifying the monitoring of special types of water bodies, and expanding to larger scales remain key focuses of current intelligent water quality monitoring. AI approaches have proven to be powerful tools for accurately modeling complex, non-linear hydrological processes and effectively employing various digital and imaging data sources (Chang et al., 2023).

Shiryaeva and Pushkareva (2026) developed a hybrid neural network model to forecast water quality parameters based on the Python platform and machine learning libraries (TensorFlow Keras, Scikit-learn, and Pandas). The model showed unprecedented forecasting accuracy with a coefficient of determination $R2 > 0.995$ for key water quality parameters. Mitrofanov et al. (2024) demonstrated that AI offers advantages over traditional methods, such as handling vast datasets, improving measurement accuracy, and enabling real-time analysis. The mathematical models and algorithms used for data processing and forecasting were discussed, including regression models, convolutional and recurrent neural networks, time series methods, and Kalman filters (Mitrofanov et al., 2024). Pikunov et al. (2025) indicated that AI is being actively implemented in the field of water quality monitoring. Sensor complexes such as YSI EXO and Eijkelkamp are used to record pH, oxygen concentration, turbidity, and nitrate content. These indicators are compared with satellite images after CNN analysis (U-Net and ResNet). Such networks identify areas of saturation of water bodies with nutrients such as nitrogen and phosphorus, leading to an exuberant growth of algae and a decrease in water quality, and other anomalies. The Google Earth Engine platform processes a huge number of images, calculates water quality indices, and generates thematic maps. The ENVI software package provides analysis of the spectral characteristics of water reflection, which determines the concentration of chlorophyll and the density of algae (Pikunov et al., 2025). Biological early warning systems (BEWS), in which living organisms are used as biosensors, allow for a comprehensive assessment of the aquatic environment's state and a timely response in the event of an emergency. Grekov et al. (2024) examined three machine learning algorithms (Theta, Croston, and Prophet) to forecast bivalves' activity data from the BEWS developed by the authors. An algorithm for anomaly detection in bivalves' activity data was developed.

Lavrova et al. (2014) concluded that the Landsat data are best suited for the detection of cyanobacterial blooms, while SAR data better reveal areas of intense diatom blooms. From Envisat MERIS data, chlorophyll-a concentration and total suspended matter maps were compiled to estimate the algae biomass. In cases of intense cyanobacterial blooms, when algae form

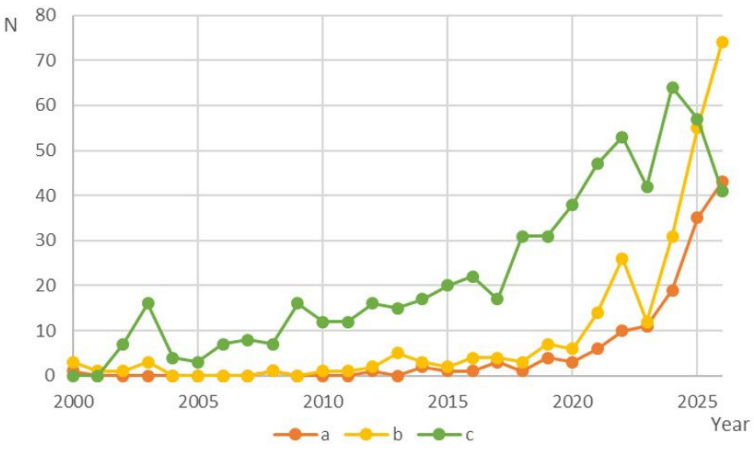


Fig.1. Number of publications based on the following ScienceDirect search: "Artificial Intelligence in hydrobiology" (line a), "AI for environmental monitoring in hydrobiology" (line b), and "Mathematical modeling in hydrobiology" (line c), from 2000 to 2026.

dense clumps on the water surface, standard algorithms developed by NASA for Envisat MERIS data showed significant limitations. Frincu (2025) studied how AI techniques could be applied in water quality monitoring. It was found that the most recent interest is among researchers from India, Pakistan, and China. More than half of the studies concern surface water monitoring, 34%–groundwater and to a lesser extent–drinking and irrigation water-related observations. Although almost all research is aimed at obtaining identical types of monitoring data, the procedure for data selection and analysis has not yet been standardized on a global scale (Frincu, 2025). ANN and LSTM neural networks, as well as RF and XGBoost methods, are considered the most suitable for monitoring aquatic ecosystems. Recently, AI techniques have been successfully applied to the prediction of extreme weather events such as floods (Haider et al., 2024) and in groundwater monitoring in regions with limited water resources (Morante-Carballo et al., 2025). Kurzenkov et al. (2025) proposed methods that allow the implementation of a systematic approach to the automated detection and monitoring of phytoplankton blooms in water bodies based on Earth remote sensing data. AI techniques in water resource management have the potential to improve the efficiency and accuracy of various tasks (Toryila et al., 2023). The advantage of AI in monitoring lies in its ability to quickly process large datasets, including through remote sensing systems.

Fig. 1b shows an increasing trend in the number of publications on ecosystem monitoring via IA data. Obviously, the number of references to AI applications in monitoring aquatic ecosystems has risen significantly since 2020.

3.2. Mathematical modeling

The mathematical modeling apparatus is currently represented in various directions, among which modeling of eutrophication processes (Sukhinov et al., 2022) and use of remote sensing data are priorities. Mathematical models and methods are widely used to study hydrological and hydrobiological processes, replacing more expensive field experiments. Hydrological modelling plays a crucial role in managing water resources in arid and semiarid regions (Kambarbekov and Baimaganbetov, 2024). Mathematical modeling in hydrobiology is the most developed among environmental fields, as noted by Kalaida and Galeeva (2010). Over 4,000 models are currently being developed using a particular mathematical apparatus, such as balance-energy principal models, water basin eutrophication models, and GIS-based models. The data assimilation methods can provide mathematical models with input data and parameter values. Hydrodynamics of lakes results from numerous processes that have a wide range of spatio-temporal scales. Understanding the patterns of currents and water circulation in lakes is important for assessing transport and transformation, as well as for predicting changes in aquatic ecosystems with various anthropogenic and climatic changes. Knowledge of seasonal and multi-year water circulation is used in the construction of ecosystem models for rational use, lake conservation, and water management.

The communities of phytoplankton and phytoperiphyton have been subject to mathematical modeling for a long time. For example, we developed a universal periphyton simulation model based on the individual examination of each species of the phytoperiphyton community throughout the development period (Sysova, 2008). The formation of a direct gradient of fouling on a substratum surface is due to the current in a boundary layer. The developed two-parametric model of algal cell reduplication adequately describes an exponential stage of periphyton development, and the three-parametric model can be used during any stage of the succession process. Filatov et al. (2017) proposed a mathematical model for plankton population dynamics that includes a system of convection-diffusion-reaction equations with nonlinear components, allowing for the study of the mechanism of external hormonal regulation based on the scenario approach. This model includes a nonlinear dependence to describe the growth rate of algal cells on the concentration of the metabolite, which enabled the description of the ability of algal excretion products to control their growth even under conditions of massive influx of pollutants.

Belova and Nikitina (2024) predicted the development of complex natural systems under pollution conditions using mathematical modeling techniques. The software based on mathematical models enables the creation of short- and medium-term forecasts for the spread of harmful substances, assessment of their impact on the growth of major phytoplankton species in the Azov Sea, and determination of management strategies for sustainable development (Belova and Nikitina, 2024).

Point and one-dimensional mathematical models of aquatic ecosystems, constructed by Petrov and Raspopov (2010), include ten differential equations. These models allow the identification of the dynamics of processes in a complex ecological water system and predict its state in time and space.

Abakumov and Izrailsky (2021) developed a of phytoplankton development dynamics based on the change in chlorophyll concentration under changing environmental conditions. The model takes into account mineral nutrients, water temperature, and illumination.

Nutrient transport has been regarded as a model for several decades. Model simulation of potassium distribution was developed by Kalinkina and Korosov (2015) for the River Kenti and adjacent lakes. Model and empirical data on the role of N/P relationships for species and dimension structures in phytoplankton communities enabled the formulation of a concept of targeted regulation of water-body bloom types through biogenic manipulation (Levich, 2000). Abakumov et al. (2013), within the framework of multi-model approach to the study of natural biological systems, offered four options that describe the dynamics of phytoplankton biomass in the aquatic environment: to examine the closed and open models, taking into account the internal condition of the body and ignoring it. Rusakov and Samokhin (2018) developed a pattern of oxygen forma-

tion in the bottom layer of the water basin.

Despite the great diversity of areas and numerous models concerning narrow mechanisms, scientists need to make considerable efforts to develop integrated models that can predict the development of ecosystems as a whole.

In addition to mathematical modeling, which describes various processes through differential or any other equations, for over 20 years, developments have appeared, which describe processes through trained neural networks. Back in 2000, Lyakh attempted to describe the phytoplankton production in the Black Sea using a neural network. He analyzed the relationship between phytoplankton primary production, chlorophyll a concentration, temperature, and water transparency. He revealed that the neural network is a powerful tool for estimation these parameters (Lyakh, 2000). The successful deployment of CNN could significantly enhance the understanding of algae species distribution (Pardeshi, 2023). On the contrary, Lakra et al. (2026) found that UNet adeptly navigates the complex phytoplankton dynamics better than CNN, ConnLSTM, and FourcastNet.

Interest in mathematical modeling in hydrobiology has been growing steadily over the past 25 years (Fig. 1c). This direction is developing gradually, together with the development of computer technology.

In summary, despite the widespread use of AI techniques in monitoring, there is still no common understanding. Efforts should be made by scientists to standardize approaches in order to facilitate the use of data obtained by researchers in other studies. The most suitable AI techniques for modeling complex hydrobiological ecosystem dynamics have yet to be identified.

3.3. Algal classification

Marine and freshwater microalgae belong to taxonomically and morphologically diverse groups of organisms spanning many phyla with thousands of species. These organisms play an important role as indicators of water ecosystem conditions, since they react quickly and predictably to a broad range of environmental stressors, thus providing early signals of dangerous changes. Conventionally, microscopic analysis was used to identify and enumerate different organisms within a given environment at a given point in time.

Barsanti et al. (2021) indicated four different methodologies to implement systems of automated and real-time analysis of microalgae. They include flow cytometry, metagenomic analysis, remote sensing, and digital microscopy.

In recent decades, computer visualization systems have been used for species classification (Pardeshi, 2023). Support vector machine methods qualified members of the genus *Scenedesmus* (Pardeshi, 2021). Kaya et al. (2023) used MobileNetV3small and Mobile NetV3large methods to classify such virtues as *Anabaena, Aphanizomenon, Gymnodinium, Karenia, Microcystis, Noctiluca, Nostoc, Oscillatoria, Proracentrum*, and *Sceletonema*. Barsanti et al. (2021) presented 13 most representative automated systems that can recognize microbiota by morphological traits. The authors generalized that recognition basically consists of five steps: sampling, obtaining high-quality images, and image processing, which in turn includes denoising, thresholding, segmentation, and contour detection. The fourth step is feature extraction and selection. Different features that describe microalgae characteristics are calculated for each image (Baltsevich and Shevyaleva, 2022). The fifth step is the identification of the objects recognized as microalgae. Automatic microalgae classification systems use CNN. The time necessary for scanning a slide and building the input dataset is ~45 minutes.

Teng et al. (2020) demonstrated that computer vision and ML algorithms allow for accurate strain species screening and classification, making high-quality microalgae images useful for further analysis. Gaur et al. (2021) used a deep learning-based algorithm to design a CNN based on the auto-classifier for *Pediastrum* identification and classification to decrease time and reliance on an algal specialist by modifying the topology of AlexNet CNN. The results of the proposed model are rather high on the augmented dataset. The efficacy of the proposed model is determined by a high training accuracy, validation accuracy, and F1-score, accounting for 100%, 99.54% and 99.99%, respectively. Shapovich (2020) using a CNN with one input layer, two convolutional, and two sub-discretionary layers, implemented an algorithm for recognizing 10 types of diatoms.

Hybrid deep learning and machine learning methods showed a significant increase in classification success rates rather than using them separately.

Due to the laboriousness of species definition under a microscope, researchers' interest in using neural networks to facilitate this process is obvious (Fig. 2).

During a period of intense development of machine learning techniques that use enough images to pretrain neural networks to identify species of algae, the number of publications of this kind has increased greatly (see Fig. 4).

Despite numerous attempts by researchers to use AI in determining species of algae, the question remains open. Researchers should focus on building a common database of algal species that includes high-quality images for successful neural network training.

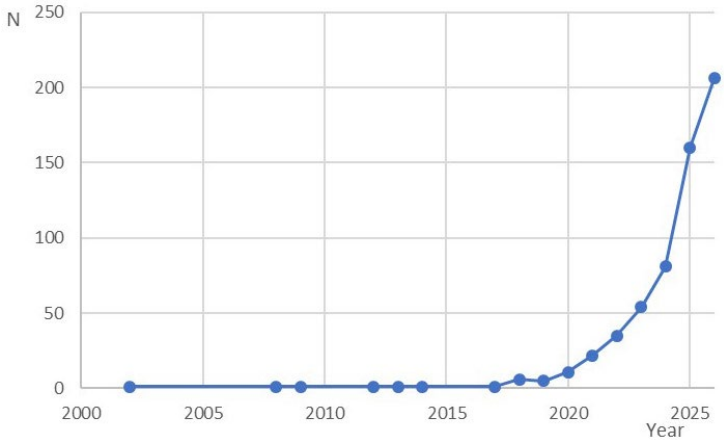


Fig.2. Numbers of publications based on ScienceDirect search "CNN in algal species classification", from 2000 to 2026.

3.4. AI-based algorithms for detection of harmful bloom-forming algae

The applications of deep learning in image recognition and classification of the bloom-forming algae, a major cause of water pollution, will be on the front line in the new innovative products, technologies, and ideas that can improve our environment. For the categorization of 15 bloom-forming algae, the MobileNet V-2, Visual Geometry Group-16 (VGG-16), AlexNet, and ResNeXt-50 models were tested with the goal of identifying or developing the best-suited convolution neural network (CNN) model for effective monitoring of bloom-forming algae. VGG-16 and Alex Net may appear to be good at first glance, with 96 and 98% accuracy, respectively, but another well-known algal-classifier model, ResNeXt-50, outperformed these two with 99% classification accuracy (Gaur et al., 2023). Qi et al. (2026) were analyzed 1.2 million satellite images with computer artificial intelligence to quantify macroalgal mats and microalgal scums in global oceans between 2003 and 2022. With a total cumulative realized niche area of 43.8 million km^2, macroalgae blooms in the tropical Atlantic and western Pacific both expanded at unprecedented rates since the 2010s. They found that he annual expansion rate of microalgae scums is also statistically significant (1.0% per year since 2003).

Because the problem of water blooms is so relevant in today's world, especially due to the possibility of toxic pollution of water bodies, this direction is one of the most studied in the scientific world (Fig. 3).

Similar to the above problem, references to machine learning techniques for detecting water blooms have shown a more than nine-fold increase in the past five years (see Fig. 3).

3.5. Microplastic pollution

The rising infiltration of microplastics (MPs) into aquatic environments is a complex threat encompassing marine biodiversity and destabilizing entire ecosystems. Traditional methods for identifying and characterizing microplastics are often manual, requiring significant time and effort due to the small size and varying sources of microplastics. Machine learning techniques can detect microplastics in aquatic ecosystems, one of the most acute challenges facing the world today. The floating giant garbage islands pollute the biosphere, causing irreparable harm to aquatic dwellers. In addition to the mechanical damage associated with the entanglement of animals in plastic packaging, micro-quantities of destructive material are introduced into food webs, being mixed with plankton, which is the basis of various organisms' diets. Manual detection and quality composition determination for time-consuming compounds require significant labor.

Nagpal et al. (2025) identified three main areas of AI application in the microplastic issue: collection and sorting, identification and definition of structures using computerized visualization systems, and modeling and monitoring of plastic decomposition in the environment. For microplastic detection and calculation, AI-integrated equipment with sensors to calculate particles in real time using DNNs is recommended, which will avoid manual counting errors. Equipment with embedded SVMs, which distinguish holographic characteristics, allows distinguishing plastic from diatoms, while this group causes the most difficulty in its detection.

Since the use of machine learning techniques, robotic machines have been able to distinguish plastics by shape, size, texture, and even color. U-Net and MultiResUNet deep learning models can detect dissimilar plastic particles in flowing waters with different flow rates (from 1 to 50 cm/s) (Nagpal et al., 2025). The YOLOv5 system can recognize transparent plastic inserts from 1 to 7 mm in images, each of which takes about 30 ms (Han et al., 2023). AI in FTIR spectroscopy significantly enhances the detection efficiency of microplastics of different configurations in marine ecosystems. Among the areas related to modeling microplastic degradation, there are models of degradation by bacteria, such as the MPL-ANN model based on calculations of bacterial colonies associated with plastic particles (Sun et al., 2019). Moreover, some models predict thermal decomposition (Nagpal et al., 2025). Large-scale projects were developed to control the amount of microplastics in oceans, such as Precision Plastic Waste Cleanup and Monitoring by Columbia Engineering, USA, a project by Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology (JAMSTEC), and the Ocean Cleanup, a nonprofit from the Netherlands. In Hong Kong, Open Ocean Engineering created Clearbot Neo, an autonomous robotic boat using AI to identify and collect floating plastic waste in waterways, preventing it from entering the ocean (Deayton, 2022). The AI model for detecting and analyzing marine pollution, including plastic waste and oil spills, through remote sensing along India's coastline was created in India (The Hindu, 2024). These technologies aim to accelerate cleanup efforts and mitigate the impact of plastic pollution on marine ecosystems (Nagpal et al., 2025).

The problem of modeling microplastic transformation has appeared in the past decade and is of constant interest among scientists (Fig. 4).

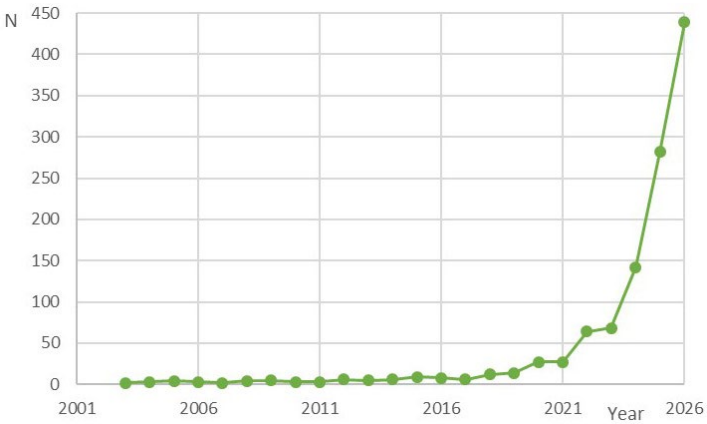


Fig.3. Number of publications, based on ScienceDirect search "AI in algal bloom classification" since 200 to 2026 years.

3.6. Investigation periods

The exact number of publications on AI applications in hydrobiology depends on the coverage of databases and search keywords because hydrobiology is an interdisciplinary science that overlaps with ecology, hydrology, bioinformatics, and oceanography. In the Web of Science and Scopus databases, the total number of peer-reviewed scientific articles on this topic over the past 20 years is estimated as 1,500 to 2,500 publications.

The dynamics of publication activity based on requests in ScienceDirect can be divided into three stages (Fig. 5).

1. Initial development stage of AI technologies in hydrobiological research (2000-2015) (see Fig. 5). In this period, researchers used simple architectures–classical artificial neural networks (ANN) like the multilayer perceptron (MLP) or the support vector method (SVM). AI was employed to model chlorophyll biomass or for a basic assessment of water quality by chemical indicators.
2. Growing interest in AI applications by researchers (2016-2020) coincides with the "deep learning revolution" and the development of CNN: the first major studies on the automatic recognition of plankton by photography, classification of fish stocks, and analysis of cetacean voices.
3. Exponential growth in the number of publications (2020-2026). This period accounts for a large share of all existing articles (from 50 to 98% of all publication volumes). This is due to the availability of pre-trained computer vision models (YOLO and transformer architectures), the development of eDNA technologies, and the launch of free high-resolution satellite archives (Sentinel, Landsat).

Among types of publications, research articles are the main source (Fig. 6).

Obviously, mathematical modeling and harmful blooms in water bodies are the most urgent issues (see Fig. 6). The largest number of reviews focused on microplastic pollution problems.

The main drivers of scientific AI productivity for hydrobiology are China (50-70% of publications on freshwater systems and water quality forecasting) and the United States (leading in global ocean monitoring and marine mammal bioacoustics). The EU countries (Germany and France), India, and Australia follow with a slight margin, which Yang et al. (2025) confirm. Interest in applying AI techniques to hydrobiology is likely to increase in the near future.

4. Conclusions

Machine learning-based models, including artificial neural networks, genetic algorithms, and support vector machines, are considered practical tools in ecological restoration and water quality prediction. Future research should focus on developing more transparent and interpretable models that can handle biases and low-quality data. The impact of AI application in water quality prediction, hydrological and hydrobiological modelling, algae classifications and monitoring, and optimization of ecological restoration strategies should be spread by addressing existing gaps through future research focused on improving the interpretation of AI models, combining AI with nature-based approaches.

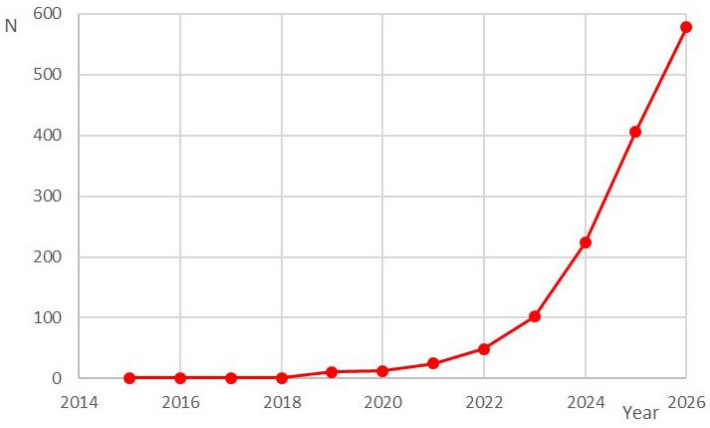


Fig.4. Number of publications based on ScienceDirect search "Artificial intelligence for modeling microplastic pollution in aquatic environment" from 2000 to 2026.

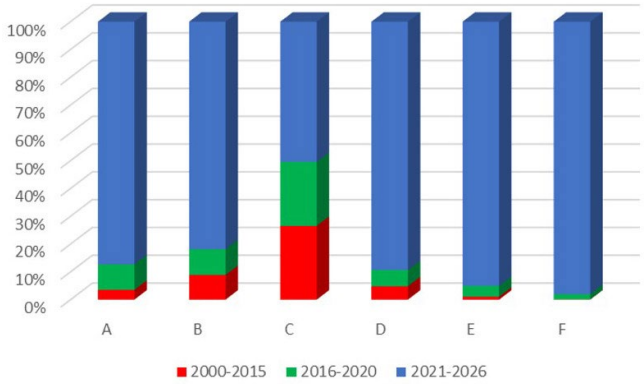


Fig.5. Publication dynamics from 2000 to 2026 in different fields of investigations (A–AI in hydrobiology; B–AI for environmental monitoring in hydrobiology; C–mathematical modeling in hydrobiology; D–AI in algal bloom classification; E–CNN in algal species classification; F–AI for modeling microplastic pollution in the aquatic environment).

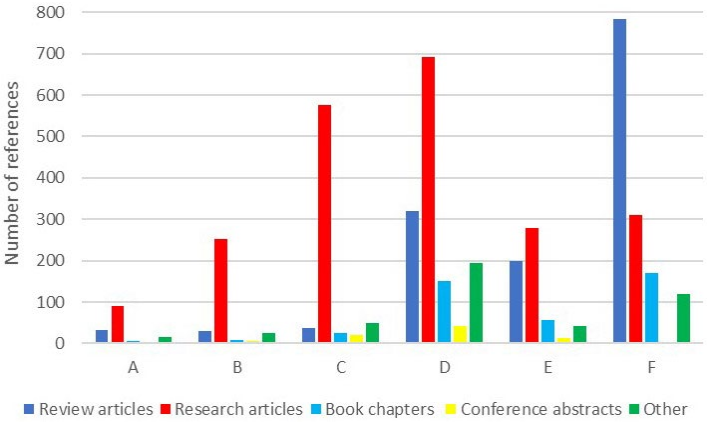


Fig.6. Types of publications from 2000 to 2026 in different fields of investigations (A–AI in hydrobiology; B–AI for environmental monitoring in hydrobiology; C–mathematical modeling in hydrobiology; D–AI in algal bloom classification; E–CNN in algal species classification; F–AI for modeling microplastic pollution in aquatic environment).

As AI techniques continue to rapidly evolve across the globe, future research should focus on developing AI techniques and methodologies, integrating advanced hydrobiological monitoring devices with varying spatial and temporal scales. AI is used in various scientific fields. It is most often used to analyze data that are difficult to process manually for a variety of reasons, from the vast volume of information to the inaccessibility of research objects. Machine learning algorithms are used to predict the bloom of toxic algae. AI allows automatic processing of satellite images.

A comparative analysis of CNN models shows their potential to successfully identify algal species with sufficient illustrative data for successful machine learning. Hybrid deep learning and machine learning methods have proven to be most effective in recognizing algae species. The application of UNet's deep learning architecture allows forecasting seasonal and multiyear dynamics of phytoplankton biomass development in oceans. The development of such models will lead to a qualitatively higher level of research on production processes in water bodies. Neural networks combined with databases of algological studies will contribute to a deeper understanding of the role of microalgae in ecosystems.

Acknowledgements

This study was supported by the State Assignment of Belarus (GPNI)

Conflict of interests

The author declares no conflicts of interest.

References

Abakumov A.I., Adamov A.A., Ismailova A.A. 2013. Modeling of microbial communities of plant organisms. Journal of mathematics, mechanics and computer science 2(77): 79-85.

Abakumov A.I., Izrailsky Yu.G. 2021. Models of phytoplankton distribution over chlorophyll in various habitat conditions. Estimation of aquatic ecosystem bioproductivity. Computer Research and Modeling 13(6): 1177–1190. (in Russian)

Baltsevich P.G., Shevyaleva A.A. 2022. Asablivascii vykarynya kanvalutsy neural networks for raspaznannya classiifikatsiyy phytoplankton species. Computer technologies and data analysis (CTDA'2022): Minsk: RIVSH, 2022. (in Belorussian)

Barsanti L., Birindelli L., Gualtieri P. 2021. Water monitoring by means of digital microscopy identification and classification of microalgae. Environmental Science Processes & Impacts 23: 1443–1457. DOI: 10.1039/D1EM00258A

Belova Y.V., Nikitina A.V. 2024. Application of Methods of Observational Data Assimilation to Model the Spread of Pollutants in a Reservoir and Manage Sustainable Development. Safety of man-made and natural systems 8(3): 39–48. DOI: 10.23947/2541-9129-2024-8-3-39-48 (in Russian)

Chang F.J., Chang L.C., Chen J.F. 2023. Artificial Intelligence Techniques in Hydrology and Water Resources Management. Water 15: 1846. DOI: 10.3390/w15101846

Deayton J. 2022. This AI-enabled robotic boat cleans up harbors and rivers to keep plastic trash out of the ocean. URL: https://news.microsoft.com/source/asia/features/this-ai-enabled-robotic-boat-cleans-up-harbors-and-rivers-to-keep-trash-out-of-the-ocean/

Filatov N.N., Menshutkin V.V. 2017. Problems of estimation of influence climate and antropogenic factors on to gydrothermodynamics and ecosystems of large stratified inland waters. Scientific notes of the Russian State Hydrometeorological University 48(9): 120-146. (in Russian)

Frincu R.M. 2025. Artificial intelligence in water quality monitoring: A review of water quality assessment applications. Water Quality Research Journal 60(1): 164-176. DOI: 10.2166/wqrj.2024.049

Gaur A., Yadav D.P., Pant G. 2021. Morphology-based identification and classification of Pediastrum through AlexNet Convolution Neural Network. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering 1116: 012197.

Gaur A., Pant G., Jalal A.S. 2023. Comparative assessment of artificial intelligence (AI)-based algorithms for detection of harmful bloom-forming algae: an eco-environmental approach toward sustainability. Applied Water Science 13: 115. DOI: 10.1007/s13201-023-01919-0

Glushchenko L.O., Piguz V.N. 2011. Tools of artificial intelligence for solving environmental problems (based on the materials of the journal "Artificial Intelligence"). Artificial intelligence 4: 277-284. (in Russian)

Grekov A.N., Vyshkvarkova E.V., Mavrin A.S. 2024. Forecasting and Anomaly Detection in BEWS: Comparative Study of Theta, Croston, and Prophet Algorithms. Forecasting 6: 343–356. DOI: 10.3390/forecast6020019

Haider S., Rashid M., Tariq M.A.UrR. 2024. The role of artificial intelligence (AI) and Chatgpt in water resources, including its potential benefits and associated challenges Discover Water 4: 113. DOI: 10.1007/s43832-024-00173-y

Han X.L., Jiang N.J., Hata T. et al. 2023. Deep learning based approach for automated characterization of large marine microplastic particles. Marine Environmental Researches 183: 105829.

Kalaida M.L., Galeeva M.Ed. 2010. The history of the development of mathematical modeling of aquatic ecosystems. Butlerovs communications 22(12): 54-60. (in Russian)

Kalinkina N.M., Korosov A.V. 2015. Simulation model of the distribution of pollutants in water bodies exposed to mining production. Principles of ecology 3: 40-59. DOI: 10.15393/j1.art.2015.4101

Kambarbekov G.M., Baimaganbetov A.Ye. 2024. Using artificial intelligence for hydrological modelling. Geography and water resources 1: 58-62. DOI: 10.55764/2957-9856/2024-l-58-62.8

Kaya V., Akgül İ., Tanır Ö.Z. 2023. A Novel Hybrid Model Based on Machine and Deep Learning Techniques for the Classification of Microalgae. Phyton 92 (9): 2519-2534.

Kurzenkov E.S., Kurzenkov M.S., Sipach V.A. et al. 2025. Automated detection and monitoring of the "blooming" of Phytoplankton in water objects using remote sensing data and GIS technologies. Vestnik Belarusian State Agricultural Academy 3: 114-121. (in Russian)

Lakra M., Fablet R., Drumetz L. et al. 2026. Static and auto-regressive neural emulation of phytoplankton biomass dynamics from physical predictors in the global ocean. URL: https://arxiv.org/abs/2602.04689v1

Lavrova O.Yu., Soloviev D.M., Strochkov A.Ya. et al. 2014. Satellite monitoring of harmful algae bloom in Rybinsk Reservoir. Sovremennye problemy distantsionnogo zondirovaniya Zemli iz kosmosa [Current issues in remote sensing of the Earth from space] 11(3): 54-72. (in Russian)

LeCun Y., Bengio Y., Hinton G. 2015. Deep learning. Nature 521 (7553): 436–444. DOI: 10.1038/nature14539

Levich A.P. 2000. Managing the structure of phytoplank-

ton communities (experiment and simulation). Doctoral Thesis, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia.

Lyakh A.M. 2000. Applicabillity of neural networks for estimation of the phytoplankton primary production in theBlack sea. Sea Ecology 52: 87-89. (in Russian)

Miller T., Michonski G., Durlik I. et al. 2025. Artificial Intelligence in Aquatic Biodiversity Research: A PRISMABased Systematic Review. Biology 14: 520. DOI: 10.3390/biology14050520

Mitrofanov S.V., Minaev O.M., Masayeva L.M. 2024. Application of artificial intelligence for monitoring the ecological state of water resources. Ekonomika i upravlenie: problemy resheniya [Economics and management: problems, solutions] 12(10): 121-128. DOI: 10.36871/ek.up.p.r.2024.10.12.014 (in Russian)

Morante-Carballo F., Arcentales-Rosado M., Caicedo-Potosí Jh. 2025. Artificial intelligence applications in hydrological studies and ecological restoration of watersheds: A systematic review. Watershed Ecology and the Environment 7: 230–248. DOI: 10.1016/j.wsee.2025.05.004

Nagpal M., Gupta K., Gupta T. et al. 2025. Advancing microplastic pollution management in aquatic environments through artificial intelligence. Journal of Environmental Health Science and Engineering 23:33. DOI: 10.1007/s40201-025-00958-w

Pardeshi R., Deshmukh P. 2023. Efficient Microalgae Species Identification using Compact Convolutional Neural Network. International Journal on Recent and Innovation Trends in Computing and Communication 11(7): 8-15.

Pardeshi R., Deshmukh P. 2023. Automatic classification of desmids using transfer learning. Journal of Applied Engineering and Technological Science 4(2): 885-894.

Petrov Y.S., Raspopov V.E. 2010. Results of computing experiments at mathematical modeling of water ecosystems. Siberian Journal of Science and Technology 1: 29-34. (in Russian)

Pikunov A.V., Plukhin A.D., Zhukova Zh.S. 2025. The use of artificial intelligence in environmental monitoring. In: Scientific and Practical conference “Flexible Manufacturing, Digital Transformation, Information Security and Ecology” (FDI&E) at MTUCI, pp. 565-570.

Qi L., Wang M., Barnes Br.B. et al. 2026. Global floating algae blooms are expanding. Nature Communications 17: 612. DOI: 10.1038/s41467-025-66822-5

Quantitative methods of ecology and hydrobiology (collection of scientific papers dedicated to the memory of Bakanov A.I.). 2005. In: Rosenberg G.S. (Ed.) Tolyatti: SAMNTS RAS. (in Russian)

Rusanov I.A., Samokhin M.A. 2018. Mathematical modeling of processes in aquatic ecosystems. Chronoeconomics 2 (10): 151-152. (in Russian)

Shapovich E.G. 2020. Intelligent system for recognition of diatomic algae using neural networks. In: Vectors of innovative development, Baranovichi.

Shiryaeva M.A., Pushkareva M.V. 2026. Neural network method of an analysis and forecasting water quality parameters to ensure public health safety. Gigiena and sanitariya [Hygiene and sanitation] 105(1): 60-67. DOI: 10.47470/0016-9900-2026-105-1-60-67 (in Russian)

Shitikov V.K., Rosenberg G.S., Zinchenko T.D. 2003. Quantitative hydroecology: methods of system identification. Tolyatti: IEVB. (in Russian)

Sukhinov A.I., Nikitina A.V., Atayan A.M. et al. 2022. Supercomputer simulation of hydrobiological processes of coastal systems. Matematicheskoe modelirovanie 34(1):81-103. DOI: 10.20948/mm-2022-01-06

Sun J., Dai X., Wang Q. et al. 2019. Microplastics in wastewater treatment plants: detection, occurrence and removal. Water Research 152: 21–37.

Sun Y., Wang D., Li L. et al. 2024. Application of remote sensing technology in water quality monitoring: From traditional approaches to artificial intelligence. Water Research 267: 122546. DOI: 10.1016/j.watres.2024.122546

Sysova E. 2008. Structure and dynamics of phytoperiphyton communities in the lakes of different trophic state. PhD Thesis, Institute of Zoology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus.

Teng S.Y., Yew G.Y., Sukačová K. et al. 2020. Microalgae with Artificial Intelligence: A Digitalized Perspective on Genetics, Systems and Products Biotechnology Advances 44(10):107631. URL: https://www.researchgate.net/publication/344282542

The Hindu. 2024. Bengaluru firm ties up with ISRO to develop AI model to identify and profile marine pollution. URL: https://www.thehindu.com/news/national/karnataka/bengaluru-firm-ties-up-with-isro-to-develop-ai-model-to-identify-and-profile-marine-pollution/article68581527.ece

Toryila T.M., Obiora O.C., Jiya V. et al. 2023. An Overview of the Applications of Artificial Intelligence in Water Engineering. International journal of engineering science and application 7 (1): 22-31.

Yang H., Feng Q., Zouyi L. et al. 2025. Artificial Intelligence in Aquatic Biology: Identifying and Conserving Aquatic Species. Water and Ecology 1(2): 100008. DOI: 10.1016/j.wateco.2025.100008

Original Article

Peculiarities of under-ice phytoplankton development in deep, cold-water lakes: Lake Teletskoye (Altai, Russia) case study

Mitrofanova E.Yu.

Institute for Water and Environmental Problems SB RAS, Molodezhnaya St., 1, Barnaul, 656038, Russia

ABSTRACT. The under-ice phytoplankton was studied in the latitudinal part of Lake Teletskoye in 1997, 2006, 2018, 2023, and 2024 under different ice conditions–partial and complete freeze-up. During the under-ice period, the total diversity and abundance of phytoplankton decreased compared to the period of open water during the spring-summer-autumn growing season. With thick ice cover and a thick snow layer, diatoms and flagellates develop predominantly in numbers–a group of small-celled centric *Pantocsekiella teletskoyensis*, *Stephanodiscus minutulus, S. binatus*, and *Stephanocostis chantaicus* and the cryptophyte algae, *Komma caudata*. These species dominate in numbers even during the period of open water. Large algae, for example, *Mallomonas alpina* from golden algae, periodically make a significant contribution to the biomass of phytoplankton. The diversity and abundance of phytoplankton in the pelagic zone are typically lower than in littoral areas. With stable freeze-up, but with thin ice and a thick snow layer, cyanobacteria develop predominantly in the under-ice phytoplankton of Lake Teletskoye; in all other cases, diatoms and cryptophyte algae develop. In littoral areas (with depths down to 30 m), benthic forms and periphyton inhabitants, mainly diatoms, make a significant contribution to the diversity and abundance of winter under-ice phytoplankton, especially to its biomass. Overall, the development of phytoplankton under the ice of Lake Teletskoye in different ice conditions ranged from extremely low to average levels for this water body. Between 1989 and 1997, phytoplankton biomass varied from 0.5 to 1207.5 mg/m^3 with a seasonal average of ~150 mg/m^3 (Mitrofanova, 2000). In winter phytoplankton, the average biomass over the four studied years was 94.3 ± 21.3 mg/m^3 (for the entire dataset) or 175.3 ± 28.7 mg/m^3 (for the 0–10 m layer), so according to the trophic scale of lakes by I.S. Trifonova (1990), Lake Teletskoye can be classified as an ultra-oligotrophic water body (0–500 mg/m^3). High values of the Shannon-Weaver diversity index may indicate the formation of an under-ice algal community.

Keywords: under-ice phytoplankton, diatoms, cryptophytes and golden flagellates, deep, cold-water lakes, Lake Teletskoye, Altai

For citation: Mitrofanova E.Yu. Peculiarities of under-ice phytoplankton development in deep, cold-water lakes: Lake Teletskoye (Altai, Russia) case study // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - P. 584-620. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-584

1. Introduction

Recently, interest in the under-ice season in lakes has increased significantly thanks to the study of the response of mid- and high-latitude water bodies to global warming (Hampton et al., 2017) and, generally, the study of life under the ice (Wüest et al., 2019). Special projects were focused on life under the ice, such as in Lake Onega, where from 2015 to 2017 researchers investigated the physical, biochemical, and biological processes during the under-ice period in the project “Life Under Ice” (Wüest et al., 2019). In lakes of temperate, subarctic, and arctic latitudes, ice can form annually, completely or partially, or not at all, and ice formation highly depends on regional climatic conditions (Kirillin et al., 2012). These water bodies are an important link in the global carbon cycle, ans they transport carbon to the ocean through river systems, deposit it in their bottom sediments, and release greenhouse gases, carbon dioxide, and methane into the atmosphere (Tranvik et al., 2009). During ice melting, approximately 50% of the annual greenhouse gas

*Corresponding author. E-mail address: mitelena-09@mail.ru (E.Yu. Mitrofanova)

Received: July 01, 2026;
Accepted after revised: August 20, 2026;
Available online: August 28, 2026

© Author(s) 2026. This work is distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

emissions are released into the atmosphere from seasonally ice-covered lakes. In winter, conditions for the growth and development of algae in water bodies of the temperate zone differ significantly from those in summer. However, life does not stop there. Notably, under the ice in aquatic ecosystems at the water-ice interface, special communities are formed, consisting of microalgae, protozoa, and bacteria (Bashenkhaeva and Zakharova, 2017). Specific communities of microorganisms also form in the voids of the ice itself, for example, in Lake Baikal ice, where cryophilic organisms successfully reproduce in intercrystalline water (Obolkina et al., 2000). Additionally, during the period between intense freezing and melting of fresh ice, its lower surface can become overgrown with algae, which was first discovered on the Amur River (Bondarenko et al., 2004). Although the ice period is highly significant and mysterious for both lakes and the Earth, it receives minimal attention, even concerning algae.

In different climatic zones in winter, diatoms, as well as phytoflagellates from golden and cryptophyte algae, more often develop in phytoplankton (Shkundina, 1983; Obertegger et al., 2022; Bashenkhaeva et al., 2025), including in cold-water deep lakes with a long mixing period and a short stratification interval (Munawar and Munawar, 1978). Moreover, phytoflagellates develop in lakes both with and without ice cover (Salmaso et al., 1999). Algae, including phytoflagellates, are concentrated under the ice, mainly in the upper horizons, which are influenced more by light and bacteria than by the number of biogenic elements (Watson et al., 2001) because most phytoflagellates are capable of heterotrophic nutrition. Under the ice, the biomass of algae can increase significantly and create a blooming effect, as, for example, in Lake Baikal, where the spring maximum, the only one in the year (Yasnitsky and Skabichevsky, 1957), is caused by the development of diatoms and peridinium algae (Menshutkin et al., 1978; Popovskaya, 1978; Katz et al., 2015), which is facilitated by thick Lake Baikal ice and voids in it (Karnaukhov et al., 2019). Similar things are observed in other deep lakes of the world (Verkhozina et al., 2000) but with less abundance.

In Lake Teletskoye, the freeze-up period refers to the winter minimum (January-April) (Lepneva, 1937; 1950). There is no annual formation of continuous ice cover in the lake (>70% of cases over 65 years of observations from 1913 to 1978). At the same time, the latitudinal part of the lake (partially or completely) freezes annually, while the meridional part freezes periodically (Selegei and Selegei, 1978). Phytoplankton during the under-ice period was studied in January-March 1997, March 2006, January and February 2018, April 2023, and March 2024. Previously, we partially presented these materials in some publications (Mitrofanova, 2000; Mitrofanova et al., 2006; 2024; 2025). Comparison and generalization have been conducted for the first time.

The aim of the study is to identify the features of phytoplankton development in Lake Teletskoye during the freeze-up period under different ice conditions.

2. Materials and methods

Winter phytoplankton was examined in January-March 1997 at station 5 (horizons 0, 10, 50, 100, 200, and 250 m), March 2006 at station 5 (0, 5, 10, 30, 50, 100, and 200 m), station 8 (0, 5, and 10 m) and station 9 (0 m), January and February 2018 at station 5a (samples were taken by divers along the slope at depths of 0, 10, and 20 m), April 2023 at station 8 (0.2, 0.6, and 0.8 m), station 7 (0.6, 6.5, and 13 m), and station 6 (0.6, 4, and 8 m), March 2024 at station 1 (0 m), station 2 (0, 10, and 20 m), and station 3 (0, 10, and 20 m), and in the open part of the lake at the exit from the bay–station 4. (0.10 m) (Fig. 1, Table 1). In 1997, the lake was covered with ice throughout the entire latitudinal extent of the lake. In 2006 and 2018, there was a complete freeze-up. In 2023 and 2024, Kamga Bay and the northern latitudinal part (Biya to Cape Karatash and Cape Azhi) from the source of the river were frozen, with an open central part at the junction of the latitudinal and meridional parts of the lake (Fig. 2).

Lake Teletskoye is located in the Altai Mountains in the south of Western Siberia. This is a deep-water (maximum depth down to 323.3 m), freshwater oligotrophic lake with a large drainage basin area (the area of the drainage basin exceeds the lake area by 91 times), a significant difference in absolute heights (2288–434 m above sea level; the average height of the basin above sea level is 1940 m), numerous tributaries (70 permanent and 150 temporary) (Selegei and Selegei, 1978), with more frequent water changes in the lake compared to other large and deep lakes of the world, and significant fluctuations in water level throughout the year

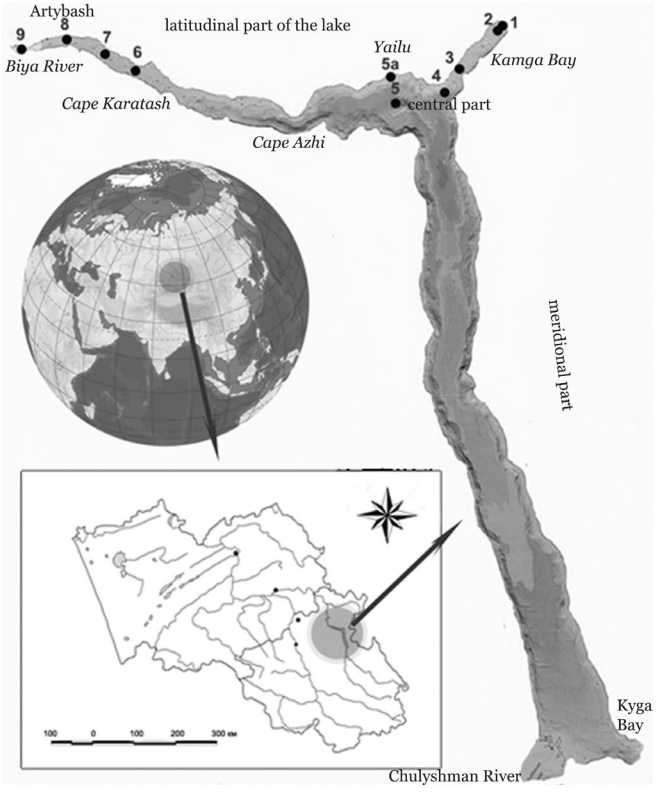


Fig.1. Schematic map of the Lake Teletskoye location and points of winter phytoplankton sampling in different years (decoding of station numbers is given in Table 1).

Table 1. Date and site of winter phytoplankton sampling in Lake Teletskoye

Date		Station		Coordinates	Total depth, m	Ice/snow thickness, cm
Year	Day, month	No.	Name			
1997	5 Jan	5	Yailu, pelagic zone	51°45'06"N 87°36'43" E	254	-
	10 Feb					-
	15 Mar					10-12/0-2
2006	8-10 Mar	5	Yailu, pelagic zone	51°45'06"N 87°36'43" E	254	39/30
		8	Artybash, pelagic zone	51°47'28"N 87°17'01" E	12	60/30
		9	Source of the Biya River	51°47'12"N 87°14'45" E	0,3	-
2018	22 Jan	5a	Yailu, littoral zone	51°46'00"N 87°35'59" E	0-20	-
	10 Feb					10/3
2023	9-11 Apr	8	Artybash, pelagic zone	51°47'28"N 87°17'01" E	12	48/4
		7	Mouth of the Tevenek River, pelagic zone	51°46'15"N 87°21'52" E	13,4	41/1
		6	Mouth of the Oyer River, pelagic zone	51°45'33"N 87°23'46" E	8,8	37/3
2024	18-25 Mar	1	Kamga Bay, mouth of the Kamga River	51°48'03"N 87°43'20" E	4,9	25/3
		2	Kamga Bay, mouth of the Kamga River	51°47'48"N 87°43'08" E	31	35/5
		3	Kamga Bay, mouth of the Turochak River	51°46'17"N 87°40'34" E	34	26/2
		4	Cape Airan, pelagic zone	51°45'20"N 87°33'96" E	159	-

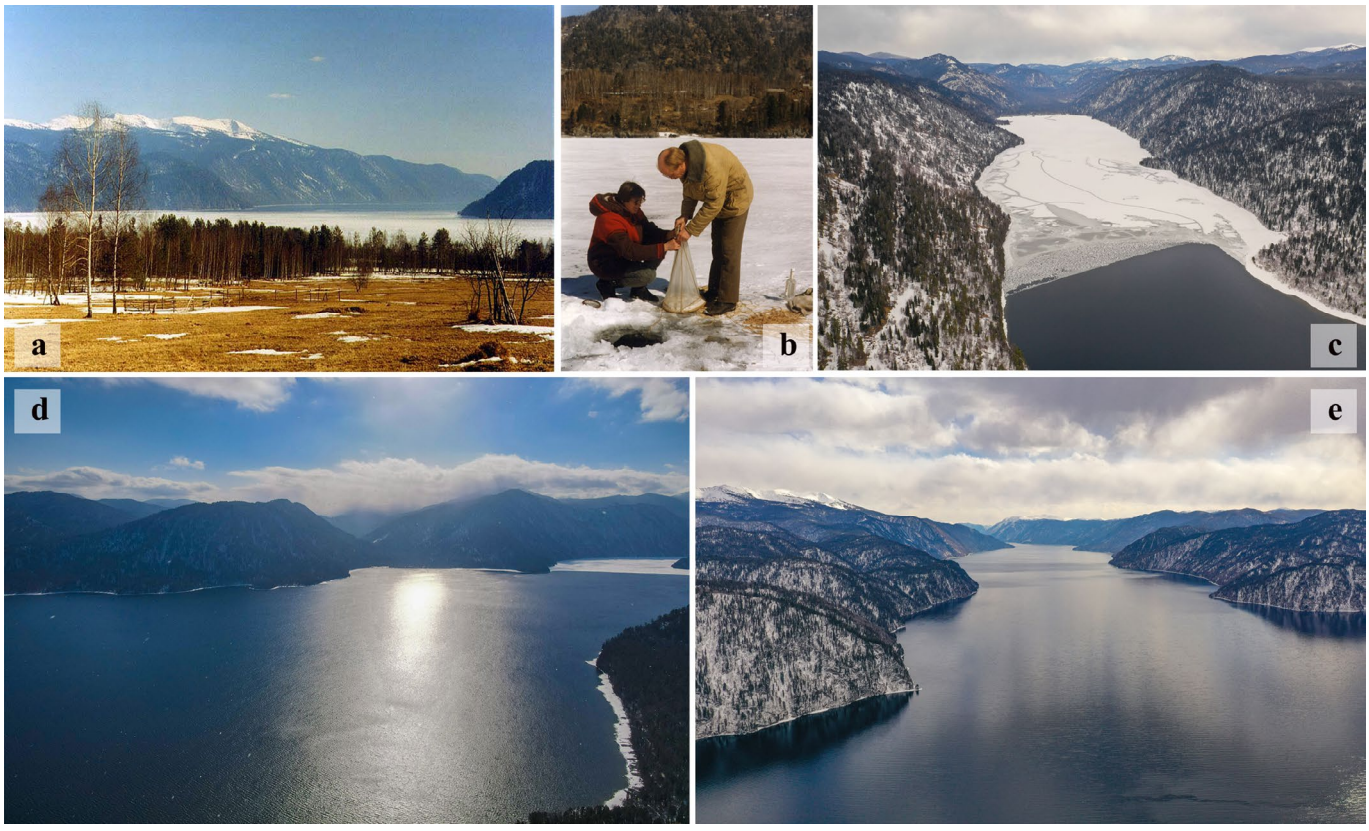


Fig.2. Ice situation at the lake in March 1997 (a-b) and 2022 (c-e): a–view from the Yailu terrace to the central part of the lake (the edge of the ice is visible); b–sampling; c–view of the Kamga Bay; d–view towards the village of Artybash; e–view of the meridional part of the lake in the southern direction, free of ice. Photo from R. Vorobyov's quadcopter.

(the maximum annual amplitude of level fluctuations can reach 6 m). The ratio of the main inflow and runoff along the Chulyshman (70–75%) and Biya (98%) rivers at opposite ends of the lake and the ratio of length and the width of the lake determine the level regime of Lake Teletskoye as a typical river one. All these factors create a special limnoclimate with low water temperatures and instability of water masses. Based on the total depths, Lake Teletskoye is usually divided into two reaches: deepwater from the mouth of Chulushman River to Cape Karatash with depths of 100–300 m and the northwestern shallow reach from Cape Karatash to the source of the Biya River with depths of 10–40 m. The deepwater part of the lake has a regular trapezoidal shape in diameter with a relatively flat bottom and steeply rising slopes of the basin (Selegei et al., 2001). The lake is elongated in the meridional (part of the deepwater reach) and latitudinal (shallow and part of the deepwater reach) directions, at the junction of which the central part is located (near the Yailu village). In the latitudinal part, winter under-ice phytoplankton was studied. The meridional part of the lake is practically inaccessible in winter.

Samples of 1.5 L in volume were taken by scooping from under the ice and using a bathometer from different horizons. In 2018, samples were taken by divers along the slope, fixed with 4% formaldehyde, thickened by settling, examined, and counted in a 0.01 mL Nageotte chamber. Phytoplankton biomass was determined by the counting-volume method. For electron microscopy, samples were filtered (volume 10–50 mL) onto Millipore and Vladipor filters with a diameter of 10 μm and pores of ~0.7–0.8 μm, washed with 70% ethyl alcohol, dried, glued with double-sided tape onto "tables" for electron microscopy, sputtered with an Au-Pd mixture, and viewed on a Hitachi S-3400N SEM. The taxonomic names of algae were brought in accordance with the AlgaeBase electronic resource (Guiry and Guiry, 2026), but some taxa, which we found in Lake Teletskoye and identified in the early 2000s, are currently absent in this system. The division into large taxa (phylum) was performed according to a system widespread in algology in the second half of the 20th century (Algae..., 1989), in which diatoms, golden algae, etc. act as equal units. Currently (Guiry, 2024), many phyla have been reclassified as classes. For instance, the phyla Bacillariophyta and Chrysophyta, as classes Bacillariophyceae and Chrysophyceae, were combined into the phylum Heterocontophyta; Dinophyta–the phylum Dinoflagellata, and some Ulothrix algae from green algae (genus *Elakatothrix* Wille)–the phylum Charophyta. Algal indication is based on the monograph by S.S. Barinova et al. (2019). The composition of winter phytoplankton in different years was compared according to Venn, and correlation with environmental factors (temperature; thickness of ice and snow)–according to Spearman (in Excel Microsoft Office 2021). The strength of the linear connection was determined using the Chaddock scale: 0–0.1–none; 0.1–0.3–weak; 0.3–0.5–moderate; 0.5–0.7–noticeable; 0.7–0.9–high; 0.9–0.99–very high; and 1–functional (Ksendzenko et al., 2025). Water quality, based on the saprobity index according to Pantle and Buck (as modified by Sladechek) (Unified Methods..., 1977; 1983), was classified according to (GOST 17.1.3.07-82).

3. Results

1997

Phytoplankton research was conducted only at station 5 during the entire winter, covering periods with (February–March) and without ice (January). For comparison, data are presented for May, when the freeze-up ended and the lake was completely free of ice. Overall, 58 taxa were identified, with 9-15 taxa observed in the samples. The abundance of phytoplankton throughout the study period for all depths ranged from 3.1 to 143.0 thou cells/L, biomass–1.8–105.6 mg/m^3 with average values of 42.5 ± 10.9 thou cells/L and 24.3 ± 8.4 mg/m^3, respectively (Table 2). At the same time, in the surface layer the range of values was smaller, and the average abundance and biomass were greater: 57.4–143.0 thou cells/L and 108.3 ± 26.0 thou cells/L and 10.9–105.6 mg/m^3 and 59.1 ± 27.4 mg/m^3. The highest abundance was recorded precisely in the surface layer (Fig. 3a) due to the development of cyanobacteria (Fig. 3b), mainly from the genus *Dolichospermum* (Bornet & Flahault) P.Wacklin, L.Hoffmann & Komárek: *D. flos-aquae* (Bornet & Flahault) P.Wacklin, L.Hoffmann & Komárek (53.8–91.4%), *D. circinale* (Rabenhorst ex Bornet & Flahault) Wacklin, Hoffmann & Komárek (2.2–26.8%), as well as *Microcystis pulverea* (H.C.Wood) Forti (84.3%) and *Anathece clathrata* (West & G.S.West) Komárek, Kaštovský & Jezberová (5.8-82.6%).

In February, cyanobacteria reached their maximum development in the sub-ice layer (135.1 thou cells/L; 94.4%). By mid-March, the total abundance of phytoplankton decreased, but the proportion of cyanobacteria in it remained almost at the same level (94.0%) with the same dominants. The cryptophyte, *Komma cau-*

Table 2. Taxonomic diversity and abundance of winter phytoplankton in Lake Teletskoye in different years

Indicators		Year			
Name	Limits	1997	2006	2023	2024
Total number of taxa		58	61	64	54
Number of taxa per sample		6-23	9-23	9-22	8-25
Number, thou cells/L	Limits	3.1-143.0	5.7-117.7	42.0-206.2	46.0-380.7
	Mean	42.5 ± 10.9	40.8 ± 11.0	141.4 ± 16.4	238.7 ± 36.2
Biomass, mg/m^3	Limits	1.8-105.6	6.1-62.9	176.5-514.5	76.0-344.0
	Mean	24.3 ± 8.4	27.1 ± 5.8	350.0 ± 32.6	195.0 ± 33.0

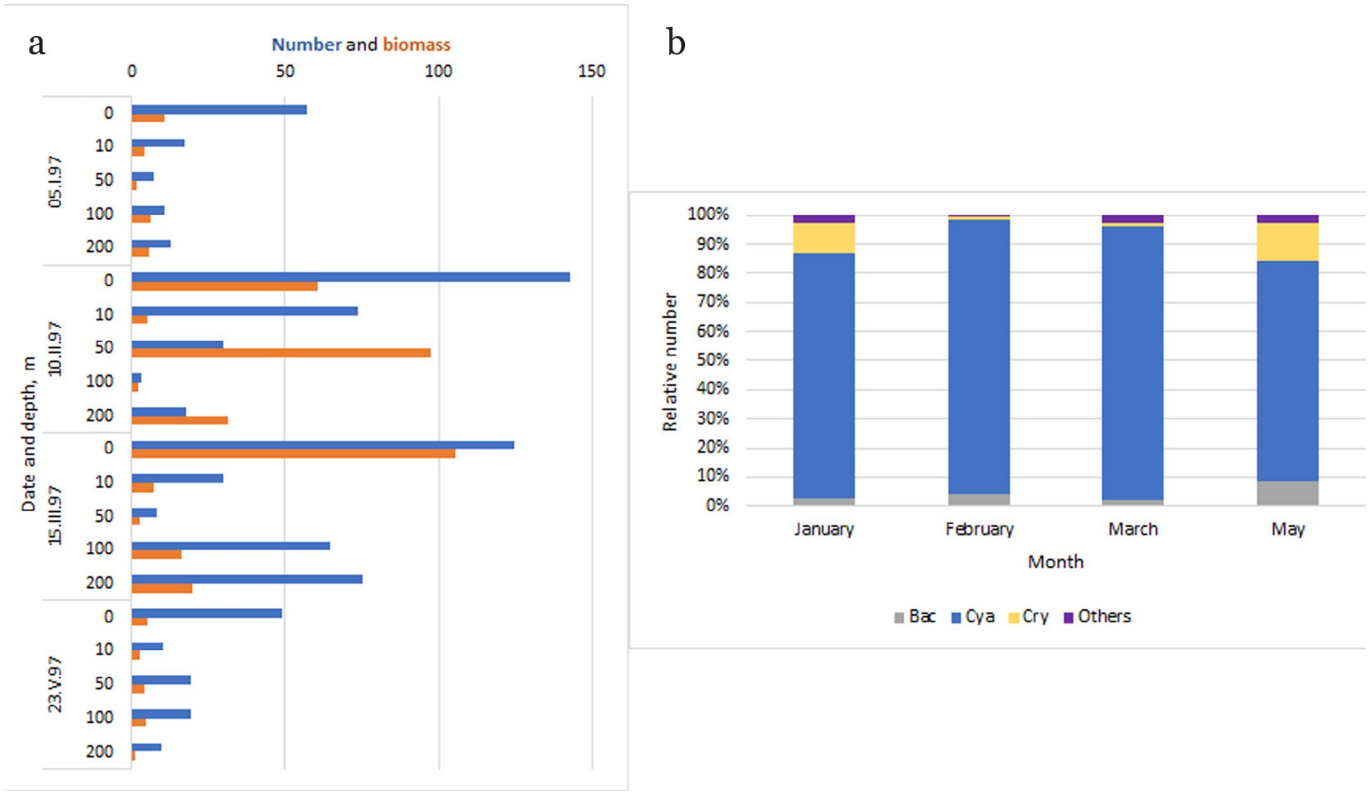


Fig.3. Changes in the abundance (thou cells/L) and biomass (mg/m^3) of phytoplankton in Lake Teletskoye (st. 5) in the winter of 1997: absolute values by date and depth (a) and relative abundance of algae phyla in the surface layer (b): Cya–Cyanobacteria; Bac–Bacillariophyta; and Cry–Cryptophyta.

data (L.Geitler) D.R.A.Hill, and the group of small-celled centric diatoms (*P*+*S*+*S*), *Pantocsekiella teletskoyensis* Genkal et Mitrofanova sp. nov., *Stephanodiscus minutulus* (Kütz.) Cl. et Möll., *S. binatus* Håkansson et H.J. Kling, and *Stephanocostis chantaicus* Genkal et Kuzmina, subdominated in January and further in May. The biomass of phytoplankton in the surface layer during the winter-spring period was greatest in March, dominated by cyanobacteria (48.9% of the total biomass). After the under-ice development in February–March, phytoplankton biomass sharply decreased in May (Fig. 3a), while both cyanobacteria (35.2%) and cryptophyte algae (35.0%) made an almost equal contribution to the total biomass, but the share in the number of cyanobacteria was still large (see Fig. 3b). The largest proportion of diatoms in the total biomass was observed in February, with a minor role in the total number due to benthic forms, for example, *Paraplaconeis placentula* (Ehr.) Kulikovskiy & Lang.-Bert.

The maximum phytoplankton biomass was not always confined to the subglacial layer. For example, in February, under the ice, the highest biomass of phytoplankton was recorded at a depth of 50 m due to the predominance of diatoms (52.8%), including the benthic form, *Surirella minuta* Bréb. ex Kütz. (46.6%), with a very low number (1.2 thou cells/L or 3.9%).

The analysis of the correlations between the abundance and biomass of phytoplankton, as well as the share of diatoms and cyanobacteria in the total abundance, on the one hand, and the thickness of ice and snow, on the other, revealed a high negative dependence of the proportion of cyanobacteria on the thickness of ice and snow (Table 3).

2006

In the under-ice phytoplankton in the latitudinal part of the lake, 49 species (54 species, varieties and forms) from 8 phyla were identified, with a significant diversity of diatoms–66%. The second largest number of species were cryptophyte algae–12%. Comparison of the composition of phytoplankton at different stations revealed that the ratio of phyla in terms of the number of taxa was similar: diatoms and cryptophytes occupied a leading position. Additionally, the taxonomic composition of phytoplankton at each station was very similar to each other–55–65%. Moreover, at station 5, 60–65% of the phytoplankton species composition included plankton algae from stations 8 and 9.

Table 3. Spearman's correlation coefficients between indicators of phytoplankton, the proportion of cyanobacteria and diatoms, and some environmental factors in 1997 ($p < 0.05$)

Indicators	Phytoplankton		Share in N	
	N	B	Cya	Bac
Snow thickness	0.41	0.39	**-0.75**	0.29
Ice thickness	0.40	0.41	**-0.79**	-0.44

Note: N–phytoplankton abundance, B–biomass, Cya–cyanobacteria, and Bac–diatoms. Connections equal to or higher than 0.5 are highlighted in bold.

The number of simultaneously vegetative taxa ranged from 9 to 23 at different stations and depths (Table 2). The smallest number of taxa was recorded at station 5 at the surface and in the bottom layer at 200 m; the largest one–at station 8 by 10 m. At deep station 5, the number of taxa was almost evenly distributed throughout the water column–9–15, with the maximum concentrations at depths of 5 and 10 m–15 and 13 taxa, respectively. Among the centric diatoms, the group *P*+*S*+*S* determined the plankton background. They were encountered at all stations and depths. At deeper horizons, large-celled centric algae, like *Stephanodiscus alpinus* Hust. and *Lindavia bodanica* (Eulenst. ex Grun.) T. Nakov, Guillory, Julius, Theriot & Alverson, appeared in the phytoplankton. At station 5, at a depth of 200 m, a particularly large cell of *L. bodanica* was detected–45 μm. Typically, both during open water and under ice, the valve sizes of this species do not exceed 30–36 μm. For the entire period of phytoplankton research in Lake Teletskoye (1989–2025), only in May 1997 at Yailu station at a depth of 270 m a valve with a diameter of 72 μm was discovered, which is almost the maximum size given in the literature for this species–80 microns (Diatoms..., 1992). At 30 m and below, plankton samples contained the thick-walled colonial diatom, *Aulacoseira subarctica* (O.Müll.) Haw. Pennate diatoms also appeared in the pelagic phytoplankton at deeper levels. Among the cryptophytes, members of two genera, *Komma* D.R.A.Hill and *Cryptomonas* Her, were the most significant. At 50 m, the colorless flagellate, *Goniomonas truncata* (Fres.) Stein (= *Cyatomonas truncata* (Fres.) Fisch.), was observed. Interestingly, a rare member of golden algae, *Stylochysallis libera* (Fott) Starm.[1], had not previously been reported for Lake Teletskoye. The alga has a very delicate housing structure. It was observed only to a depth of 10 m at station 5 and only at the surface at station 8. Additionally, a large member of this phylum, a cold-loving species, *Mallomonas alpina* Pasch. & Rutt., developed in the lake phytoplankton during this period. He was observed at station 5, at a depth of 5 m, and at station 9.

Notably, *Dinobryon divergens* Imh., common in the plankton of the lake throughout the entire open period, was not found in the winter under-ice plankton. Among green algae, *Scherffelia incisa* (Nyg.) Masjuk & Lilitsk made a significant contribution, which was also detected in other seasons of the year, both in the pelagic and littoral zones of the lake.

The abundance and biomass of phytoplankton were recorded within the range of 5.7–117.7 thou cells/L and 6.1–62.9 mg/m^3 (Fig. 4a; Table 2). The maximum and minimum values of abundance were recorded at station 5–depths of 5 and 200 m, respectively. It should be noted that the proportion of diatoms in the pelagic zone of the lake in the total phytoplankton abundance increased with depth–from 30.6 to 85.4%, while that of cryptophytes decreased from 50.2 to 10.4%, respectively (Fig. 4b). The main contribution to the phytoplankton abundance was made by the *P*+*S*+*S* group of diatoms–23.6–47.9%, and by *K. caudata* of cryptophytes–10.4–37.7%. Due to the small size of these diatoms and cryptophytes, their share in the phytoplankton biomass was insignificant: 1.5–6.0% and 1.1–13.0%, respectively.

An unspecified dinophyte (possibly a spore) (11.8–68.6%), large-celled diatoms *A. subarctica* (16.1–31.9%), and *L. bodanica* (62.4%) were the most significant contributors to the total phytoplankton biomass. In the pelagic zone of the lake, phytoplankton biomass and abundance are primarily confined to the photic layer—5–10 m. At station 8, accumulations of planktonic algae were also found at these same layers rather than at the surface. There was the same trend in the contribution of different species to the total abundance and biomass of phytoplankton in the lake. An analysis of correlations between the abundance, biomass, and number of taxa in phytoplankton, as well as the proportion of the *P*+*S*+*S* group in total abundance and biomass, on the one hand, and the total depth at stations and ice thickness (snow thickness at different stations was the same during the sampling period), on the other (Table 4), revealed that the number of taxa had a significant negative relationship with the station depth.

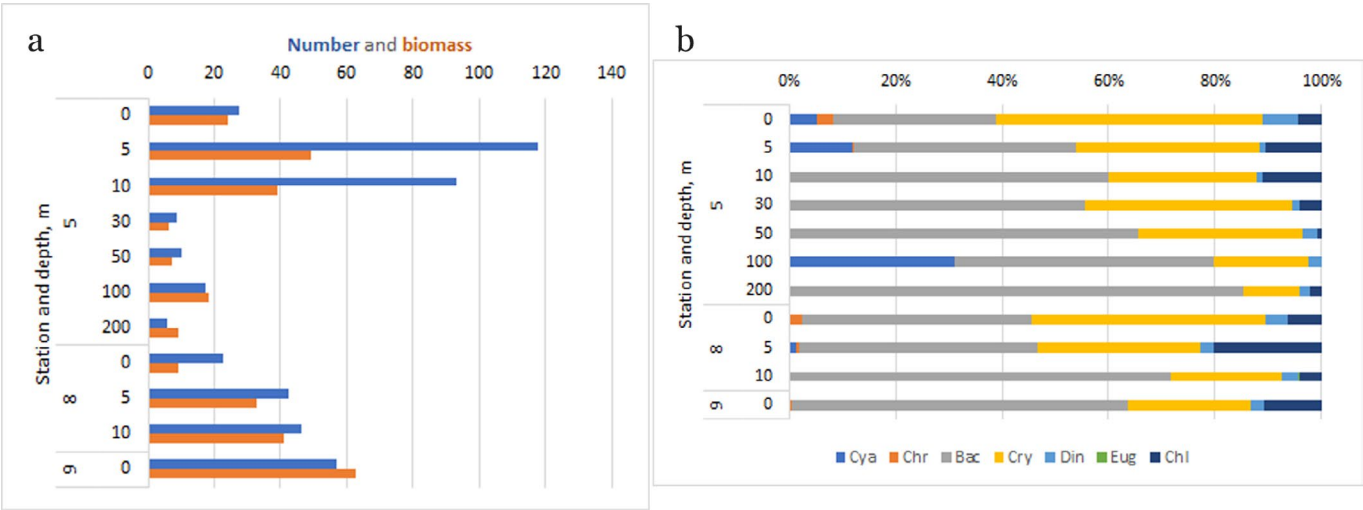


Fig.4. Changes in the abundance (thou cells/L) and biomass (mg/m^3) of phytoplankton in Lake Teletskoye (station 5) in March 2006: absolute values (a) and relative abundance of algal phyla (b) by dates and depths: Cya – Cyanobacteria, Chr – Chrysophyta, Bac – Bacillariophyta, Cry– Cryptophyta, Din – Dinophyta, Eug – Euglenophyta, Chl– Chlorophyta.

[1] This species is not listed in AlgaeBase; it was mentioned by Matvienko (1954).

Table 4. Spearman's correlation coefficients between phytoplankton indicators, the proportion of small-celled centric diatoms, and some environmental factors in March 2006 ($p < 0.05$)

Indicators	Phytoplankton			Share of $P+S+S$ in	
	N	B	n	N	B
Total depth	-0.03	-0.40	**-0.59**	-0.20	0.32
Ice thickness	-0.14	-0.42	-0.22	-0.20	-0.06

Note: N–phytoplankton abundance; B–biomass; n–number of taxa. Connections equal to or higher than 0.5 are highlighted in bold.

2018

In the lake's littoral zone, at the junction of the latitudinal and meridional parts of the lake (stations 5a)[2], 53 algal taxa from six phyla were identified in the winter before and during freeze-up, with diatoms significantly predominating (55%) (Fig. 5a). Green algae (8 taxa) were ranked second, while three phyla (cyanobacteria, golden algae, and cryptophytes) had four-six taxa, and dinophytes had one taxon.

Several species of golden algae and cryptophyte flagellates were present in the lake's littoral plankton. Among the chrysophytes, three species of the genus *Mallomonas* Kristiansen were identified: *M. elongata* Reverd., *M. acaroides* Perty, and *M. producta* Iwanh[3]. Among the cryptophytes, four species of the genus *Cryptomonas* were recorded: *C. erosa* Ehr., *C. gracilis* Skuja, *C. marssonii* Skuja, and *C. ovata* Ehr., as well as *Rhodomonas pusilla* (H. Bachm.) Javornicky and *Komma caudata*, one of the most abundant phytoplankton species in Lake Teletskoye.

A decrease in the number of phytoplankton species from 39 to 29 was observed between January and February, coinciding with ice formation, but the species ratio remained constant (Fig. 5b). However, 17 species were present in the lake's phytoplankton both in January and February. Perhaps the phytoplankton composition had not yet significantly changed with the recent ice formation.

2023

We identified 62 algal taxa from six phyla, with the highest diversity of diatoms at 71.0%. The predominance of benthic forms and periphyton in diversity may suggest the shallowness of the water body in the study area and the significant importance of its littoral zones, as well as the great coastal fouling contribution from its tributaries. Green algae ranked second in diversity, including Volvocales and Ulothricales (members of the genus *Elakatothrix*), as well as unspecified Chlorococcales. The remaining divisions contained two-three taxa each, indicating that the winter subglacial phytoplankton was low in diversity, a finding previously reported and confirmed in this study. The taxonomic diversity of phytoplankton in Lake Teletskoye at different stations and depths ranged from 9 to 22 taxa, with an average of 16 ± 1 taxa (see Table 2). At the same time, at each station, an almost identical number of taxa was recorded, as well as an almost identical contribution of individual algal divisions to the overall composition (Fig. 6a), i.e., the subglacial phytoplankton of the northern latitudinal part of the lake was similar in composition at different stations. Diatoms comprised 70–71% of the total phytoplankton algae composition, and green algae–9.7–20.0%. In the surface horizons at two stations (8 and 7), the number of taxa was lower than in the deeper water layers, while at station 6 the smallest number of taxa was found in the middle layer.

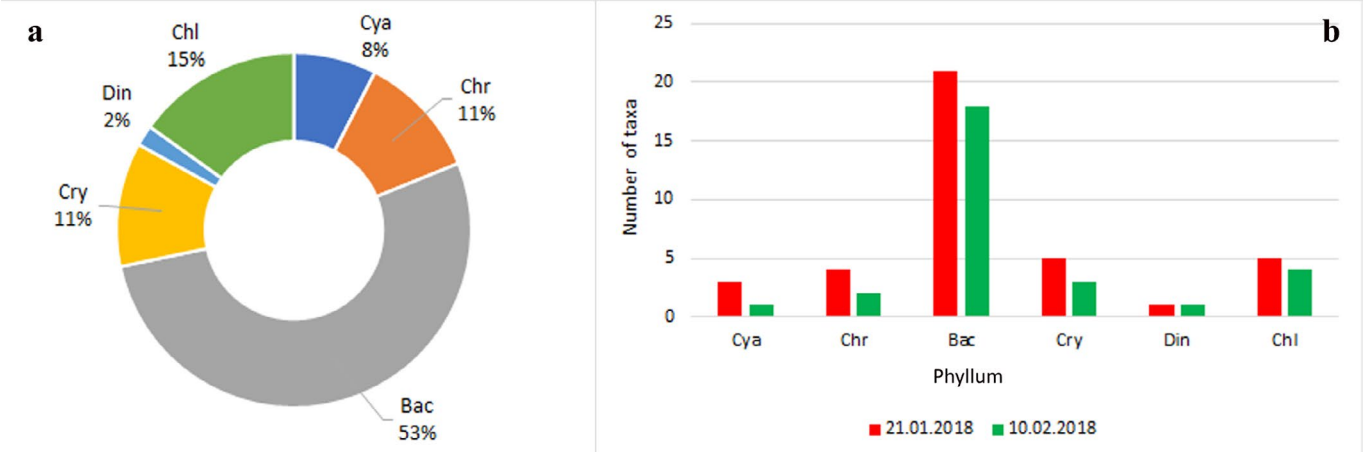


Fig.5. The general proportion of algae phyla (a) and distribution by sampling dates (b) in the phytoplankton of Lake Teletskoye (Yailu, littoral zone) in 2018, in numbers of species and %. Cya–Cyanobacteria; Chr–Chrysophyta; Bac–Bacillariophyta; Cry–Cryptophyta; Din–Dinophyta; and Chl–Chlorophyta.

[2] Data for this year are not presented in Table 2, as the phytoplankton composition and structure were studied without quantitative characteristics.

[3] This species name is currently invalid. We could not find it anywhere.

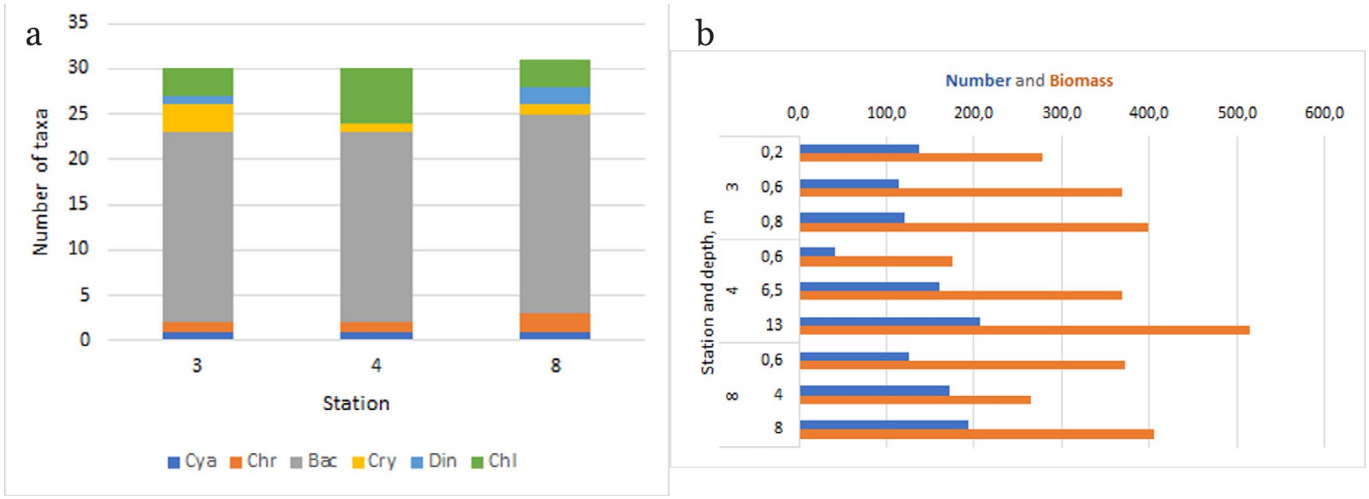


Fig.6. Algal phylum ratio (a) and phytoplankton abundance (b) (number (thou cells/L) and biomass (mg/m^3)) in Lake Teletskoye in April 2023. Cya–Cyanobacteria; Chr–Chrysophyta; Bac–Bacillariophyta; Cry–Cryptophyta; Din–Dinophyta; and Chl–Chlorophyta.

The abundance of phytoplankton in Lake Teletskoye during the ice-cover period was low and ranged from 42.0 to 206.2 th. cells/L, while its biomass reached higher values of 176.5–514.5 mg/m^3 with an average of 141.4 ± 16.4 thou cells/L and 350.0 ± 32.6 mg/m^3, respectively (Fig. 6b; Table 2). The share of diatoms in the abundance of phytoplankton was 20.00–90.98% with an average value for the entire data set of 59.08 ± 9.81%, in the biomass–4.17–85.63% with an average of 63.96 ± 10.24%. Green algae ranked second in terms of contribution to the abundance and biomass of phytoplankton: the share in abundance was 1.01–68.57% with an average of 21.46 ± 8.53%, and the share in biomass was 3.71–87.18% with an average of 23.71 ± 8.62%. At some stations and layers, the contribution of cryptophyte algae was significant: the share in abundance was 1.45–34.07% with an average of 13.36 ± 4.76%, and the share in biomass was 0.89–37.54% with an average of 7.91 ± 3.84%. Among diatoms, the small-celled diatom complex *P*+*S*+*S* was the most abundant, with a 100% occurrence and 55.6% dominance frequency. The cryptophyte alga, *K. caudata*, had a 100% occurrence and a dominance frequency of 22.2%, indicating that the significance of these dominant species in terms of abundance was also maintained in the lake's subglacial phytoplankton. The dominant complex by biomass included both small-celled plankton representatives, with their significant contribution to abundance, and algae with larger cells, primarily benthic diatoms. Thus, the small-celled *P*+*S*+*S* complex, with 100% occurrence, dominated by biomass in 22.2% of cases, while *K. caudata* dominated in 11.1%, as did the green chlamydomonads, *Scherffelia incisa*. The average station-specific phytoplankton abundance increased from station 8 to station 6, i.e., with increasing depth, while the average phytoplankton biomass was virtually the same at all stations.

We studied the development of the *P*+*S*+*S* group in under-ice phytoplankton of the lake before snowmelt. Overall, for the entire surveyed section of the lake, the *P*+*S*+*S* group contributed from 8.6 to 57.7% in abundance, with an average of 30.3 ± 6.1%, and from 2.3 to 24.1% in biomass, with an average of 14.1 ± 2.4%. The greatest contribution of the *P*+*S*+*S* group to both phytoplankton abundance and biomass was observed at station 8 (both maximum, minimum, and average values) (Fig. 7), i.e., the shallowest station. An analysis of correlations revealed that the number of taxa in phytoplankton during the sub-ice period was directly related to the total depth at the station and snow thickness, while phytoplankton abundance and biomass were inversely related to depth and directly

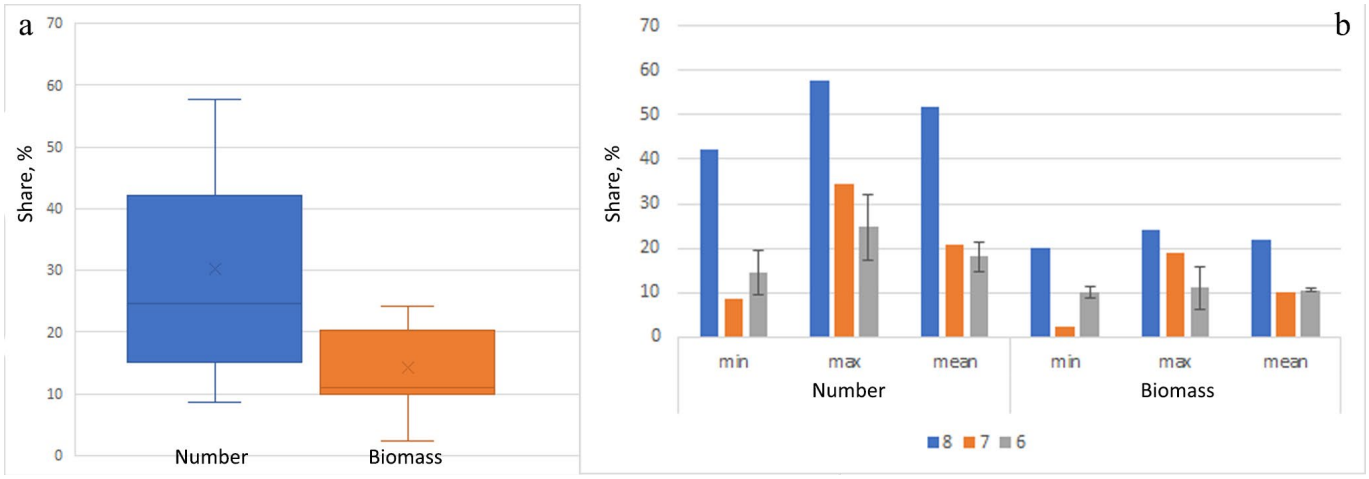


Fig.7. Maximum, minimum, and average contributions of small-celled centric diatoms to the abundance and biomass of Lake Teletskoye phytoplankton in April 2023 overall (a) and by station (b).

related to snow cover thickness. The proportions of the $P+S+S$ group in phytoplankton abundance and biomass correlated negatively with water temperature and positively with snow and ice thickness to varying degrees (Table 5).

2024

We identified 53 algal taxa from six phyla, with diatoms exhibiting the highest diversity at 56.6%. Green algae ranked second in diversity, including Volvocaceae (members of the genera *Chlamydomonas* Ehr. and *Scherffelia* Pasch.), as well as Chlorococcales, typical plankters (members of the genera *Monoraphidium* Kom.-Legn. and *Tetrastrum* Chod.), and desmids (member of the genus *Closterium* Nitzsch ex Ralfs). Flagellates from the cryptophyte genera *Komma* and *Cryptomonas* were well represented. The remaining phyla contained 1–4 taxa each, indicating that winter under-ice phytoplankton was relatively undiversified.

The most diverse, but least abundant, phytoplankton was found at the mouth of the Kamga River. In Kamga Bay (station 1), phytoplankton of approximately the same composition and quantity was recorded in the littoral zone at two stations (stations 2 and 3), while in the pelagic zone of the lake at the bay outlet (station 4), phytoplankton was less diverse and less abundant, with the greatest contribution of diatoms (Fig. 8a). In general, diatoms in different parts of the bay waters accounted for 27.8–66.7% of the total plankton algae composition; green algae–6.9–22.2%. At station 2, there were more taxa near the surface than at a depth of 10 m, but fewer than at 20 m. On the contrary, at station 3, the smallest number of taxa was near the surface, and the greatest was at a depth of 10 m, while this value decreased at 20 m. The waters of the Kamga River, a large tributary of the lake, flowing into the bay might contribute to the mixing of the water mass, and no specific trends in the distribution of algae in the water column were detected. In the pelagic zone, algae were more concentrated at a depth of 10 m rather than near the surface, which is consistent with the fact that the pelagic surface is more exposed to wind and wave action in the absence of ice.

Phytoplankton abundance during the ice-cover period ranged from low to average for this water body, ranging from 46.0 to 380.7 thou cells/L, and biomass—from 76,0 to 344,0 mg/m^3, with averages of 238.7 ± 36.2 thou cells/L and 195.0 ± 33.0 mg/m^3, respectively (Fig. 8b; Table 2). The proportion of diatoms in the abundance of phytoplankton was 35.4–78.2% with an average value for the entire dataset of 57.6 ± 5.1%, and the biomass was 1.9–86.3%, averaging 50.4 ± 10.9%. At certain stations and horizons in March, the contribution of cryptophyte algae was significant: the proportion in abundance was 7.6–42.8% with an average of 22.7 ± 4.3%, and the proportion in biomass was 2.6–25.9%, averaging 9.2 ± 2.4%. Among the diatoms, the small-celled diatom complex $P+S+S$ was dominant in numbers, with 100% occurrence and 55.6% dominance frequency, while the cryptophyte alga *K. caudata*–with 88.9% occurrence and 33.3% dominance frequency. In the dominant assemblage by biomass, the small-celled $P+S+S$ complex, with an 11.1% occurrence rate, was not dominant, while *K. caudata*, with a 22.2% occurrence rate, was also not dominant. The dinophyte alga, *Glenodinium quadridens* (Stein) Schill., dominated only once–near Kamga River mouth (occurrence frequency 44.4%; dominance frequency 11.1%); in the pelagic zone, it was not recorded in the dominant assemblage. The average phytoplankton abundance decreased from station 2 to station 3 and increased towards pelagic station 4.

The contribution of the $P+S+S$ group ranged from 21.9 to 67.1% in abundance with an average value of 35.0 ± 4.7%, and from 1.9 to 11.7% in biomass with an average value of 6.3 ± 1.0. The greatest contribution of the $P+S+S$ group to phytoplankton abundance was recorded at station 1 in the surface layer, and the biomass–at station 2 at a depth of 10 m. Analysis of correlations between the abundance, biomass, and number of phytoplankton taxa, as well as the share of the $P+S+S$ group in the total abundance and biomass, on the one hand, and water temperature, total depth at the stations, and snow and ice thickness, on the other (Table 6), revealed a very high negative dependence on water temperature for the share of $P+S+S$ in phytoplankton abundance, and a moderate positive dependence on snow and ice thickness. The proportion of $P+S+S$ in phytoplankton biomass showed a significant positive correlation with snow depth and a moderate positive correlation with ice depth. For phytoplankton as a whole, a significant (moderate negative) correlation was observed only for the number of taxa; i.e., the more snow, the fewer species in phytoplankton.

Furthermore, we analyzed the contribution of each of the four species comprising the $P+S+S$ group to the phytoplankton of Kamga Bay in the sub-ice layer. *P. teletskoyensis* was the most abundant species. Its relative abundance varied from 73.3 to 87.8% of the group,

Table 5. Spearman's correlation coefficients between phytoplankton indicators, the proportion of small-celled centric diatoms, and some environmental factors in April 2023 ($p < 0.05$)

Indicators	Phytoplankton			Share of $P+S+S$ in	
	N	B	n	N	B
Temperature	-0.29	0.31	0.22	**-0.67**	**-0.75**
Total depth	**-0.66**	**-0.97**	**0.94**	-0.28	-0.17
Snow thickness	**0.97**	**0.67**	**0.74**	**0.98**	**0.95**
Ice thickness	0.25	-0.34	-0.25	**0.65**	**0.73**

Note: N–phytoplankton abundance; B–biomass; n–number of taxa. Connections equal to or higher than 0.5 are highlighted in bold.

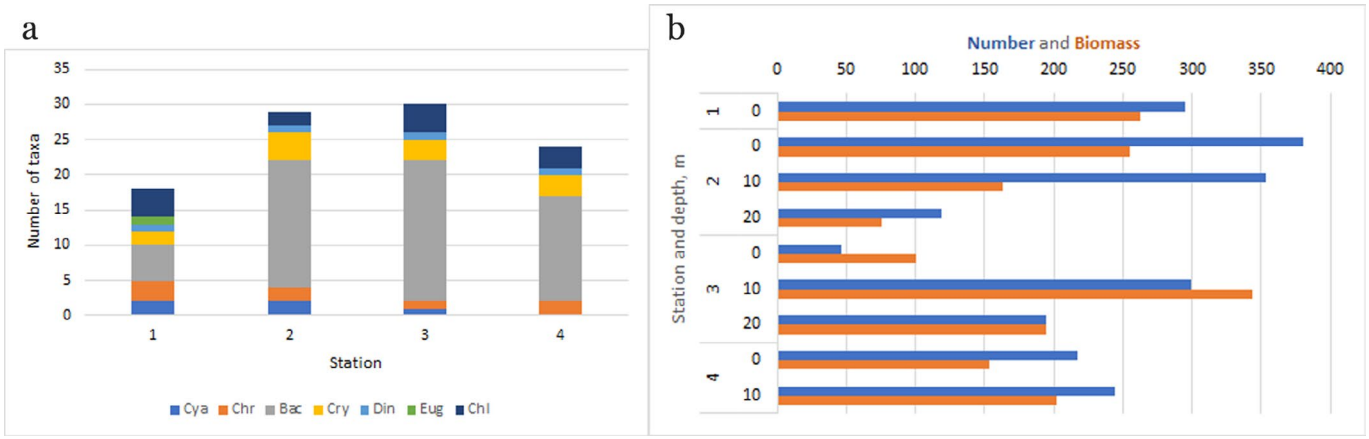


Fig.8. The ratio of algae diversity (a) and abundance of phytoplankton (number, thou cells/L, and biomass, mg/m^3) (b) in Lake Teletskoye in March 2024. Cya–Cyanobacteria; Chr–Chrysophyta; Bac–Bacillariophyta; Cry–Cryptophyta; Din–Dinophyta; and Chl–Chlorophyta.

with an average of 81.9 ± 1.4%. *S. chantaicus* was the second most significant species, accounting for 6.8–17.3% and 13.1 ± 1.1%, respectively. The remaining two species, although present in each sample, showed insignificant quantities.

Ecological and geographical analysis of algal plankton composition during the ice-covered period

Analysis of the taxonomic composition and ecological characteristics of algae revealed that the plankton of Lake Teletskoye during the ice-covered period was dominated by bottom algae and periphyton (33.6% of the total number of identified taxa and 48.5% of taxa with known ecological characteristics), cosmopolitan in geographic distribution (43.6% and 62.9%), alkaliphiles and indifferent to pH (17.9% and 39.1%, 19.3%, and 42.2%, respectively), and indifferent to water mineralization (48.6% and 71.6%), as well as betamesosaprobionts in terms of organic compound content (25.7% and 48.7%) (Table 7).

4. Discussion

The impact of ice conditions on the dominant phytoplankton complex and quantitative characteristics in Lake Teletskoye

Lake Teletskoye, found in the Altai Mountains of southern Western Siberia, only experiences freezing in its northern latitudinal section each year, and rarely freezes entirely (Selegei and Selegei, 1978). In recent decades, complete freeze-ups have become irregular. Previously, complete ice cover was observed every 8–13 years. In 2006, the lake completely froze over after more than 15 years without freezing. In our study, complete ice cover was observed in 2010 and 2018. Its great depth (323 m), the prevalence of nearly constant mountain winds in its valley, and the short period of external water exchange (5.6 years) determine the lake's thermal and hydrological conditions (Selegei and Selegei, 1978; Selegei et al., 2001). These factors lead to inconsistent, late, or short-lived ice cover. Open water during the winter, accompanied by strong, persistent winds in the lake valley, negatively impacts the development of algae in the lake's water column.

The phytoplankton sampling in 1997, 2006, 2018, 2023, and 2024 coincided with varying ice conditions on the lake (Fig. 9).

In 1997, the lake froze over its entire latitudinal section, i.e. from east to west from Kamga Bay (stations 1–4) to the source of the Biya River, including the pelagic zone opposite the settlement of Yailu (stations 5–9). At station 5, the ice was 10–12 cm thick and practically snow-free (Fig. 2). In 2006 and 2018, the complete and prolonged freeze-up was observed over the entire lake, which is very rare. The ice was thick with a powerful snow cover of >30 cm. Usually, the thin ice is broken by winds that blow in the narrow lake valley either from the northwest or from the southeast. In 2023, the northern latitudinal section of the lake' Kamga Bay and the section from the source of the Biya River to Cape Karatash were frozen, and in 2024, the freeze-up occurred a little further east to Cape Azhi (in front of the central part). During these two years, the pelagic zone near the Yailu settlement (station 5) remained ice free. Ice conditions similar to

Table 6. Spearman's rank correlation coefficients between phytoplankton indicators, the proportion of small-cell centric diatoms, and some environmental factors in March 2024 ($p < 0.05$)

Indicators	Phytoplankton			Share of $P+S+S$ in	
	N	B	n	N	B
Temperature	-0.13	-0.07	0.27	**-0.97**	-0.49
Total depth	-0.08	-0.15	**0.57**	**-0.52**	-0.18
Snow thickness	0.29	-0.10	-0.32	0.38	**0.61**
Ice thickness	0.13	0.00	0.19	0.33	0.31

Note: N–phytoplankton abundance; B–biomass; n–number of taxa. Connections equal to or higher than 0.5 are highlighted in bold.

Table 7. Ecological characteristics of algae in the under-ice plankton of Lake Teletskoye

Ecology		Geographical distribution	
Group	**Number of taxa**	**Group**	**Number of taxa**
Planktonic	38	Arctic and alpinus	14
Benthic	**47**	Boreal	22
Planktonic and benthic	11	Cosmopolitan	**61**
epibionts	1		
Number of taxa with known characteristic (% of total number of taxa)	97 (69.3)		97 (69.3)
Halobness		**Kelation to pH**	
Group	**Number of taxa**	**Group**	**Number of taxa**
Halophobic	10	Acidophilus	5
Halophile	15	Alkalibiont	7
Indifferent	**68**	Alkaliphile	**25**
Mesohalob	1	Indifferent	**27**
Oligohalob	1		
Number of taxa with known characteristic (% of total number of taxa)	95 (67.9)		64 (45.7)
Saprobity			
Group	**Number of taxa**	**Group**	**Number of taxa**
xenosaprobes (0-0.5)	7	betamesosaprobes (1.5-2.5)	**36**
oligosaprobes (0.5-1.5)	20	alfamesosaprobes (2.5-3.5)	11
Number of taxa with known characteristic (% of total number of taxa)		74 (52.9)	

those in 2024 were observed in March 2022, as shown in Figs. 2c-d. This variable ice coverage of the lake contributed to differences in the composition of under-ice phytoplankton.

Overall, 140 taxa were identified in the winter phytoplankton of Lake Teletskoye during the study period, dominated by diatoms, green algae, and cyanobacteria: Cyanobacteria–16, Chrysophyta–9, Bacillariophyta–79, Cryptophyta–9, Dinophyta–5, Euglenophyta–3, and Chlorophyta–19. Cyanobacteria are always present in the lake plankton, especially small-celled coccoid forms. During the phytoplankton study period from 1989 to 1997, cyanobacteria accounted for 10.6% of the total number of taxa (Mitrofanova, 2000). In the winter plankton, the proportion of cyanobacteria was practically in the same range–11.4%. In terms of the cyanobacterial proportion in the total phytoplankton composition of the lake, the phytoplankton of 1997 stood out with 21.1%, while in other study years, the proportion of cyanobacteria ranged from 4.9 to 7.7% of the total composition (Fig. 10). Thin transparent ice with a small amount of snow on its surface provided sufficient light penetration into the water column and created favorable conditions for the development of cyanobacteria in 1997, mainly the species *Dolichospermum flos-aquae*, *D. circinale*, as well as *Microcystis pulverea* and *Anathece clathrata*. This is well confirmed by the correlation links between cyanobacteria and ice thickness–a high negative correlation dependence, i.e. as the ice thickness decreases, the proportion of cyanobacteria in the phytoplankton abundance increases (Table 3). In the entire dataset presented in this publication, a similar negative dependence was also observed, although slight but obvious (Table 8).

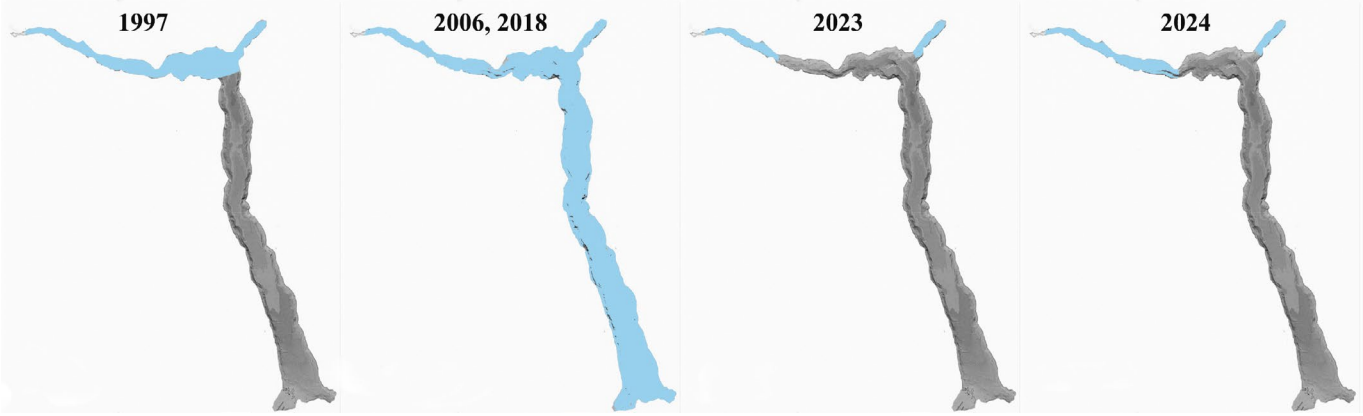


Fig.9. Ice conditions on Lake Teletskoye during periods of phytoplankton research (blue–ice cover; grey–open water).

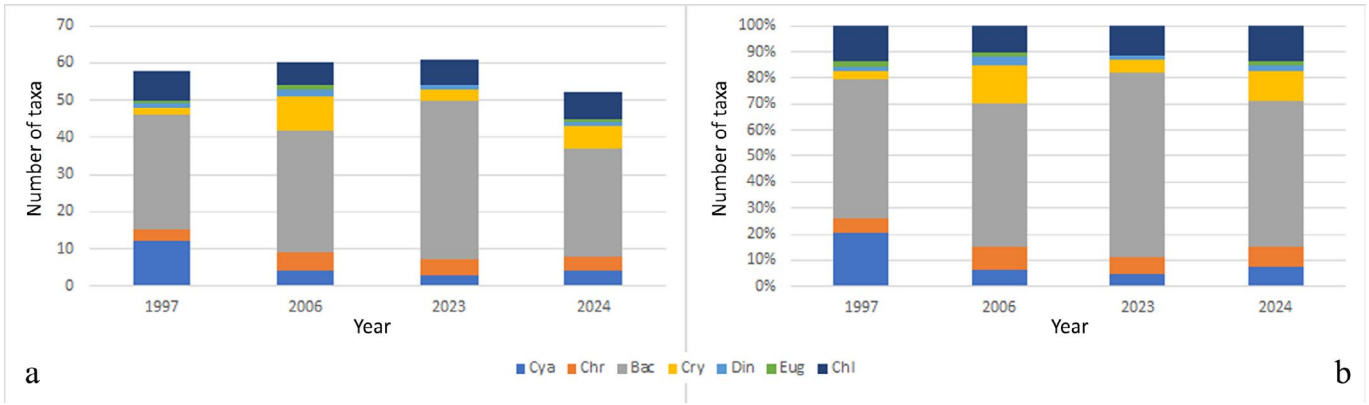


Fig.10. Absolute (a) and relative (b) abundance of algal taxa in winter phytoplankton of Lake Teletskoye. Cya–Cyanobacteria; Chr–Chrysophyta; Bac–Bacillariophyta; Cry–Cryptophyta; Din–Dinophyta; and Chl–Chlorophyta.

If we summarize and analyze all significant (>0.5) linear relationships in the studied years, 1997 stands out only for its high negative correlations between the proportion of cyanobacteria in phytoplankton abundance and ice and snow thickness. In turn, 2006 exhibited a noticeable negative correlation between the number of taxa and total depth. In 2023 and 2024, the range of correlations was much broader, likely due to the study area in the littoral zones of the lake, where environmental conditions are more diverse (owing to the influence of tributaries), as presented graphically in Fig. 11.

Intensive and prolonged period of the water column mixing, short stagnation period, increased flow of the water body does not allow cyanobacteria to reach high abundance in the lake phytoplankton during summer or other seasons with open water, while under the ice, in conditions of low temperatures and the absence of turbulence, they can significantly increase their numbers. At the same time, with a thick layer of ice and snow both in the pelagic zone (2006) and in shallower areas (2018 and 2023-2024), the diatom-cryptophyte component–the $P+S+S$ group and the cryptophyte alga *Komma caudata*–becomes the most significant in phytoplankton. Cryptophytes are known to comprise a typical cold-water species complex, characteristic of the subglacial and early spring plankton in lakes (Trifonova, 1990; Bondarenko and Shchur, 2008). In Lake Baikal, several species of cryptophytes are found, including *Cryptomonas gracilis* Skuja and *C. ovata* Ehr., which are year-round residents. Significant numbers of *C. reflexa* (Marsson) Skuja, *C. marssonii* Skuja, and *Rhodomonas pusilla* (Bachm.) Javornicky develop in subglacial plankton. *K. caudata*, as in Lake Teletskoye, is a constant component of the plankton in Lake Baikal. In spring and autumn, this species becomes one of the

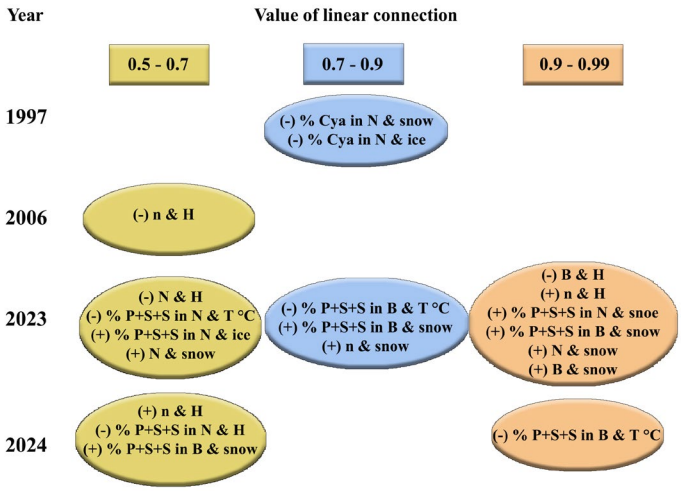


Fig.11. Correlation relationships between plankton indicators and environmental factors in different study years.

dominant species, occurring throughout the entire water column (Atlas and Guide..., 1995).

A distinctive feature of flagellates, which belong to golden and cryptophyte algae, is their ability to switch to heterotrophic feeding under unfavorable light conditions. This property is entirely appropriate in winter, when the onset of ice formation sharply reduces the influx of solar radiation into the water layers. Among the golden algae, *Mallomonas elongata*, *M. acaroides*, and *M. producta* are often found in lakes in late autumn, winter, or spring, such as in the shallow lakes of Katunskie Belki (Matvienko, 1954). Most of the identified cryptophytes (*Cryptomonas erosa*, *C. gracilis, C. marssonii, C. ovata, Rhodomonas pusilla*, and *Komma caudata*) are widespread in lakes and other water bodies. They also prefer the cold season and are often found in high-altitude oligotrophic lakes (Kiselev, 1954).

Table 8. Spearman's correlation coefficients between phytoplankton parameters, the proportion of cyanobacteria and diatoms, and some environmental factors for the winter phytoplankton in Lake Teletskoye during different years, surface layer ($p<0.05$)

Indicators	Phytoplankton		Share in N	
	N	B	Cya	Bac
Snow thickness	-0.38	0.22	-0.30	0.02
Ice thickness	-0.44	0.22	**-0.62**	0.34

Note: N–phytoplankton abundance; B–biomass; Cya–cyanobacteria; Bac–diatoms. Connections equal to or higher than 0.5 are highlighted in bold.

A comparative analysis of algal diversity in the subglacial phytoplankton of Lake Teletskoye (Fig. 12) revealed that a similar number of taxa vegetate during the winter in each of the studied years, and approximately the same number are shared between adjacent years (36–57%). The slightly reduced number of taxa identified in 2024 may be due to the isolation of Kamga Bay, where the samples were collected. The high diversity of planktonic algae in winter during different years may indicate significant consistency in the composition of this ecological group in the lake across different years under varying ice conditions.

Comparison of dominant complexes in lakes of different climatic zones during winter

During winter, diatoms (Shkundina, 1983), along with cryptophytes and golden flagellates, also develop in the phytoplankton of various climatic zones. Diatoms are distinguished by their resistance to dynamic conditions and can develop even in the absence of ice cover. For example, small-celled centric diatoms and cryptophytes predominate in the winter plankton of Lake Superior (USA–Canada) (Munawar and Munawar, 1978), which, like Lake Teletskoye, is a cold-water, deep-water lake with a long mixing period and a short stratification interval. Lake Superior rarely freezes completely (approximately once every 20 years); typically ~23% of its water area is covered by ice from February to April (Singer, 2026). The predominance of flagellates is also observed in shallow water bodies with a higher trophic level. For example, in winter under the ice in the shallow humic lake Crystal Swamp (Wisconsin, USA), the plankton is also dominated by cryptomonads, euglenophytes, and ciliate protozoans (Graham et al., 2004). In the small lake of glacial origin, Third Sister Lake (Michigan, USA), diatoms dominate the phytoplankton during the subglacial period, with pennate forms being more abundant than centric ones. Golden algae (genus *Dinobryon* Ehr.) and cyanobacteria (genus *Planktothrix* Anagnostidis & Komárek) are another numerous group (Judd et al., 2005). During the ice-covered season, flagellates are also common in shallow waters, and besides the cryptophytes found in Lake Teletskoye, these lakes contain dinoflagellates and euglenophytes, similar to eutrophic and oligotrophic lakes in Sweden (Danilov and Ekelund, 2001). Interestingly, cryptophytes have always been present in Swedish lakes, but *Cryptomonas erosa* and *C. reflexa* were abundant in eutrophic lakes, while *C. marssonii* only occasionally appeared in oligotrophic ones. Lake Constance (Bodensee, Germany-Switzerland-Austria) shows weak algal growth during the winter. At this time of year, with little zooplankton activity and high availability of biogenic elements, cryptophyte and small centric algae are the dominant phytoplankton, a pattern observed in many alpine lakes of diverse sizes (Sommer, 1986) and in Lake Teletskoye. Overall, phytoplankton abundance in the oligotrophic lakes analyzed above is significantly lower than in eutrophic lakes, even under winter conditions due to low levels of biogenic elements. Thus, in different climatic zones, winter phytoplankton in lakes often combines diatom and phytoflagellate species, belonging to golden and

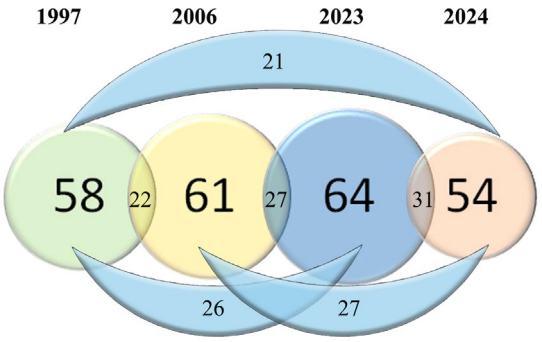


Fig.12. Diversity of under-ice phytoplankton in different years (supplemented linear Venn diagram): numbers in large font–number of taxa in the studied years; numbers in small font–number of common taxa in adjacent years.

cryptophyte algae. We observed a similar distribution in the winter phytoplankton in Lake Teletskoye.

The under-ice phytoplankton of Lake Teletskoye is characterized by greater development in the littoral zone of the lake, where its abundance is higher compared to pelagic areas. Thus, in the Yailu pelagic zone (station 5) in 1997, the average value of the Shannon diversity index for abundance was 1.08 ± 0.13, and biomass–1.59 ± 0.17. In 2006, the abundance and biomass in the pelagic zone were 1.83 ± 0.05 and 1.60 ± 0.14, respectively, and in the littoral zone–1.88 ± 0.13 and 2.00 ± 0.19, respectively. If during the open water period, the development of phytoplankton in the pelagic zone is limited mainly by the hydrodynamic factor (wind-wave mixing), in the area with ice cover–by the thickness of ice and snow on it. Thus, in 1997 and 2006, the abundance and biomass of phytoplankton in the Yailu pelagic zone (station 5) were lower than in 2006 and 2023–2024 in the littoral zones. Furthermore, in shallow areas of the lake and under the ice, as during the open water period, benthic and periphytic forms predominated in diversity, which may indicate a significant influence of the littoral zone in the formation of the planktonic component in the lake. For example, in April 2023, the contribution of benthic forms to the total diversity of phytoplankton at stations 6–8 was >70%. On the contrary, in Lake Baikal, its endemics, mainly truly planktonic algae, in the pelagic zone cause sharp interannual fluctuations in phytoplankton abundance. Based on the spring diatom plankton biomass (biomass >1000 mg/m^3), years are classified as highly productive, moderately productive (from 500 to 1000 mg/m^3), and low-productivity (<500 mg/m^3). Maximum biomass values during this period can reach 5–7 g/m^3. In highly productive years, diatom abundance can account for 90% of the total phytoplankton abundance, and the biomass can reach 95% (excluding picoplankton) (Popovskaya et al., 2002; Popovskaya et al., 2008).

One of the features of phytoplankton development in Kamga Bay of Lake Teletskoye in March 2024 was the development of the dinophyte alga, *Glenodinium quadridens*, at some stations, primarily near the surface. Its proportion in phytoplankton abundance was

low, ranging from 1.7 to 11.5% with an average of 5.0 ± 1.0%, while in biomass–from 3.8 to 89.1% with an average of 32.0 ± 11.0%. We did not observe such dinophyte development during other periods of subglacial phytoplankton research. Dinophyte "blooms" in winter are typical, for example, of Lake Baikal, when these algae develop in ice cavities and, after the ice shell melts, emerge into the plankton, causing the spring "bloom." This is characteristic of *Gymnodinium baicalense* Antipova (Karnaukhov et al., 2019).

In general, the phytoplankton development under the ice in Lake Teletskoye in different sampling periods ranged from extremely low to average levels for this water body. Thus, over the period from 1989 to 1997, the phytoplankton biomass ranged from 0.5 to 1207.5 mg/m^3 with an average per season of ~150 mg/m^3 (Mitrofanova, 2000). According to the average biomass of winter phytoplankton over four studied years for the entire data set (94.3 ± 21.3 mg/m^3), or the average biomass in the 0–10 m layer (175.3 ± 28.7 mg/m^3), according to the trophic level of lakes by I.S. Trifonova (1990), Lake Teletskoye can be classified as an ultraoligotrophic water body (0–500 mg/m^3). In the deepest and oldest lake on Earth, the spring maximum under ice can exceed the summer development of phytoplankton and be the only per year (Yasnitsky and Skabichevsky, 1957), resulting from the development of diatoms and peridinium algae (Menshutkin et al., 1978; Popovskaya, 1978; Katz et al., 2015). This is largely due to the transparent, albeit thick (~1 m) ice on Lake Baikal, as well as the voids (caverns) in it (Zavoruev et al., 1995; Karnaukhov et al., 2019). In Lake Teletskoye, ice of such thickness is usually not observed. Only during the particularly cold winter of 1968-1969 did it occur. Over 50 years of observations, the maximum ice thickness recorded at the junction of the latitudinal and meridional parts of the lake (station 5) was 102-105 cm. The duration of ice cover in Lake Teletskoye is also much shorter than in Lake Baikal: the average duration of ice cover in the latitudinal part is 69-155 days, depending on the site, and in the meridional part–36-45 days (Selegei and Selegei, 1978). All this does not contribute to the widespread development of algae under the ice of Lake Teletskoye.

Flagellate development in winter phytoplankton at Lake Teletskoye resembles that of polar and Arctic waters. However, some authors argue that light is not a limiting factor for the pelagic algal community in such water bodies. Biogenic elements are more significant, which are insufficient from the drainage basin (Bonilla et al., 2005). Lake Teletskoye, whose watershed contains sufficient areas occupied by charred alps (the alpine density rate of the lake basin is 44.3% (Selegei and Selegei, 1978)), also receives few biogenic elements, especially phosphorus. The phosphate ion concentration in Lake Teletskoye's waters is insignificant and at the detection limit (Zinoviev et al., 2012), making phosphorus a limiting factor for phytoplankton development. Flagellates, which predominate in Lake Teletskoye during certain periods of the year, including under ice, are capable of mixotrophy. Moreover, even though Lake Teletskoye usually has limited phytoplankton growth, most of it thrives in shallow waters, and the benthic organisms significantly contribute to phytoplankton diversity. This makes Lake Teletskoye similar to polar and Arctic water bodies, where benthos and periphyton are especially significant. The bulk of phototrophic biomass in such water bodies is concentrated in benthic algal communities (~98% of the total pigment reserve) rather than in plankton (Bonilla et al., 2005). In terms of the development of flagellates in phytoplankton, Lake Teletskoye shares similarities with Antarctic lakes, which are completely and permanently covered by an ice shell (up to 4 m or more (Laybourn-Parry et al., 2001)). In such water bodies, cryptophyte algae often predominate among the flagellates. For example, in Lakes Fryxell and Hoare (McMurdo Dry Valley, Antarctica), *Rhodomonas lacustris* Pascher & Ruttner (= *Chroomonas lacustris*) dominates, comprising up to 90% of the phototrophic nanoflagellate community (Roberts and Laybourn-Parry, 1999) or >87% of the phototrophic nanoflagellate biomass. A small rise in biogenic elements, notably nitrogen, leads to the development of green chlorococcal algae alongside flagellates. For example, in Lake Tranquil (west coast of Signy Island in Antarctica), *Ankistrodesmus falcatus* (Corda) Ralfs was dominant (Bulter et al., 2000). Antarctic lakes are characterized by periods of complete darkness during the polar night (147 days) and constant insolation during the polar day (147 days). During other times of the year, these lakes resemble temperate zone lakes during winter freeze-up, as the temperature in the layer near the ice is close to zero and increases with depth (Roberts and Laybourn-Parry, 1999). During the polar night, light is a limiting factor; during other periods of the year, biogenic elements determine the development and concentration of algae at different depths (Bayliss et al., 1997). In Lake Teletskoye, the biogenic element background is low, so under winter conditions, the "calmness" of the water column, i.e., the ice cover and its thickness ensuring it, is of greater importance. In terms of seasonality, the winter phytoplankton of Lake Teletskoye is naturally poorer in diversity than the summer one. The number of simultaneously vegetating species in it can reach 25 taxa, with a total diversity in some years reaching 64 taxa. However, other large and deep lakes in the temperate zone are also characterized by a low diversity of winter phytoplankton. For example, a similar number of species and varieties was identified in the winter phytoplankton of southern Ladoga–13–45 algal species and varieties (Sukhoparova, 1995). The subglacial phytoplankton of Lake Baikal is primarily characterized by endemic diatoms and associated cryptophyte and green algae (Atlas and Guide..., 1995; Popovskaya et al., 2008).

In various large lakes during the freeze-up period, diatoms of the genus *Aulacoseira* are typical representatives of winter phytoplankton, dominating both in abundance and biomass. For example, in southern Ladoga these are *A. islandica* (O. Müll.) Sim., *A. islandica* ssp. *helvetica* (O. Müll.) Sim., and *A. italica* (O. Müll.) Sim. In some cases, cyanobacteria of the genera *Microcystis* and *Gomphosphaeria* Kütz. are also included

in the complex of dominant species thanks to their ability to undergo heterotrophic nutrition. The maximum phytoplankton biomass in Lake Ladoga was recorded at deeper-water stations–down to 0.373 mg/L in Volkhov Bay and down to 0.005 mg/L in Petrokrepost Bay. Vertically, planktonic algae are primarily concentrated in the surface layer and at the bottom (depth down to 6 m) (Sukhoparova, 1995). In Lake Baikal, the biomass of diatom plankton in the trophogenic water layer in high-productivity years reaches 5-7 g/m^3 in spring, while that of peridinium algae reaches 100 g/m^3 or more. The total phytoplankton biomass in the spring of high productivity years can reach 1,0 thousand tons wet weight in the lake as a whole (Votintsev, 1986). Under conditions of abundant biogenic elements, these species develop in significant quantities even at insignificant water temperatures. Their maximum abundance occurs at the end of the early spring period–before the lake opens up (Menshutkin et al., 1978). In Lake Teletskoye, *Aulacoseira subarctica* was recorded as a colonial diatom. It is found primarily in the pelagic zone deeper than 30 m and may contribute significantly to phytoplankton biomass rather than abundance. However, in bottom sediments, this species predominates over all other diatoms because of its well-preserved state, possibly due to its thick-walled shell (Mitrofanova et al., 2016).

Vertically, algae in Lake Teletskoye are primarily confined to the upper 5–10 m. Algal development is unfavorable in the water layer immediately adjacent to the ice, likely due to low temperatures (~0 °C). While flagellates can independently regulate their presence in the water column, convective mixing in ice-covered lakes facilitates this for sedentary phytoplankton. For example, *Aulacoseira baicalensis* in Lake Baikal can persist in the upper layers for several days to over a month due to this phenomenon (Kelley, 1997). Up to 95% of planktonic algae was reported to be concentrated in the water layer receiving 0.5–20% of solar radiation. Research was conducted in the shallow Beaver Pond in Lincoln, Massachusetts, USA, from December 1961 to February 1962. The greatest phytoplankton development was observed in the water layer near the surface (1–2 m). The most diverse and abundant flagellates were from the cryptophytes, dinoflagellates, chrysophytes, and euglenophytes. Diatoms were also present (Wright, 1964). Algae must be sufficiently mobile to occupy the best position relative to the light. Thus, in Antarctic lakes, the maximum abundance of phytoplankton is often recorded in deeper horizons with increased insolation, for example, below 25 m in Lake Beaver (Laybourn-Parry et al., 2001) or between 6 and 12 m in Lake Hoare (Roberts et al., 2004). However, during periods of complete darkness, cryptophytes and other flagellates, due to their active ability to move, migrate to the upper ice layers in order to accumulate sunlight at the first opportunity (McKnight et al., 2000). At the same time, under the influence of light and temperature factors, algae select less illuminated but warmer layers of water, since at temperatures close to 0°C, reactions involving enzymes inside algal cells slow down (Lizotte and Priscu, 1992). On the other hand, there are cases where the maximum algal biomass is confined to the layer with the highest amount of nutrients, indicating that the chemocline plays an important role. For example, in lakes Fryxell and Bonney (Antarctica), the chemocline is located at a depth of 9–10 m, while in Lake Vanda it is below 50 m (Seaburg et al., 1983).

The periodic prevalence of cyanobacteria in the winter phytoplankton of Lake Teletskoye (for example, in 1997) may indicate a long-term succession of cyanobacteria and flagellates within the planktonic community. A predominance of cyanobacteria in phytoplankton was also observed in Antarctic lakes. For example, in Lake Druzhba, cyanobacteria dominate phytoplankton year-round, including under ice, but reach their greatest abundance in autumn (Laybourn-Parry and Bayliss, 1996). Perhaps the brief opening of the lake in summer creates favorable conditions for cyanobacteria to thrive. Furthermore, during the summer, when some Antarctic lakes are free of ice for short periods, flagellates from cryptophytes, dinophytes, and green algae play an important role in the phytoplankton of such waterbodies (Laybourn-Parry et al., 1991).

In addition to light and temperature, grazing by zooplankton is one of the important ecological factors influencing phytoplankton development in lakes. Even under winter ice conditions, some algae (those of suiTable size for grazing) are at risk of decline in abundance due to grazing (Vasseur et al., 2005). Zooplankton are not selective in their food sources; they capture or filter-feed algae that are large enough to fit into their gullets. The stomach contents of zooplankton in Lake Teletskoye contained algae of a suiTable size for their diet, which were growing in the lake when the samples were collected (Mitrofanova, 2003). Zooplankton abundance in Lake Teletskoye is low (Zuikova, 1998). Most likely, the zooplankton in this body of water does not significantly influence phytoplankton abundance during the ice-covered period.

Indicative value of under-ice phytoplankton

Analysis of the ecological and geographic characteristics of the species identified in under-ice phytoplankton revealed a predominance of benthic and periphyton organisms (33.6% of the total number of identified taxa), cosmopolitan species (43.6%), alkaliphiles and indifferent species concerning pH (17.9 and 19.3), and indifferent species concerning water mineralization (48.6%), as well as betamesosaprobionts concerning organic compound content (25.7%). This may indicate a typical phytoplankton composition in Lake Teletskoye during the winter period. The high proportion of true planktonic organisms (27.1%), as well as algae that spend part of their life cycle in the benthos and then in plankton (7.9%), may indicate a significant pelagic component in the lake. In the pelagic zone, which is turbulent due to wind and wave conditions, algae most resistant to such dynamic conditions thrive, primarily diatoms, as well as flagellates, which include golden and cryptophyte algae.

The dominance, measured by the Shannon species diversity index, did not exceed 2.16 for abundance and 2.43 for biomass. These values are in the middle of the range observed for Lake Teletskoye based on long-

term phytoplankton studies: 0.35–3.01 and 0.23–3.20, respectively (Mitrofanova, 2000). This may indicate a well-developed planktonic community, even during the winter minimum: the lower the index value, the fewer dominant species. High diversity indices are typically characteristic of large lakes, regardless of their trophic state, because the diversity of ecological niches increases with increasing lake area. Moreover, the index value fluctuates seasonally. For example, the highest diversity index in Lake Teletskoye was recorded in late summer and early autumn of 1989 due to a polydominant cenosis, which is also typical of other lakes with a lower trophic state (Lavrentyeva, 1986).

The saprobity index, indicating organic pollution of the lake water, did not exceed 1.85. According to long-term data, the saprobity index varied between 0.20 and 2.33, with an average long-term value of 1.57 for the lake during the growing season, and corresponded to changes from the xenosaprobic to the mesosaprobic zone (Mitrofanova, 2000). During the winter, the development of cold-loving algae in the plankton, which are mostly indicators of clean water, indicates low organic pollution in the lake. According to the water quality classification of water bodies and streams, Lake Teletskoye water is classified as very clean (<1.00), clean (1.00–1.50), and only in some cases moderately polluted (1.51–2.50). This is most likely due to a slight decrease in self-purification processes during the winter rather than to direct anthropogenic pollution of the lake.

5. Conclusion

A study of under-ice phytoplankton in Lake Teletskoye over different years and ice conditions revealed the following developmental patterns, both under extreme (temperature and illumination) and comforTable (wind and wave load) conditions:

- overall phytoplankton diversity decreases compared to the open-water period, especially during the summer months, during the period of maximum warming. However, the phytoplankton are rather diverse (algae from 6 to 8 phyla, with up to 25 taxa per sample). In the pelagic zone, phytoplankton diversity and abundance were lower than in the littoral ones;
- diatoms and flagellates of cryptophytes and golden algae predominate. Diatom-cryptophyte plankton consists of a group of small-celled centric diatoms $P+S+S$ (*Pantocsekiella teletskoyensis, Stephanodiscus minutulus, S. binatus*, and *Stephanocostis chantaicus*) and the cryptophyte alga, *Komma caudata*, which predominate in abundance during sTable and prolonged freeze-up. The predominance of diatoms and cryptophytes is typical for large, deep lakes in the temperate zone and polar Arctic and Antarctic waters with short periods of open water or permanently under ice cover.
- during sTable freeze-up, but with thin ice and a slight snow cover, cyanobacteria were observed in the under-ice phytoplankton of Lake Teletskoye, primarily in the near-surface layers. A high negative correlation was found between the proportion of cyanobacteria in phytoplankton abundance and ice thickness. In littoral areas, benthic forms and periphyton inhabitants, primarily diatoms, contribute significantly to the diversity and abundance of winter subglacial phytoplankton, particularly its biomass. The proportion of benthic components in the lake's phytoplankton is significant both in winter under ice and during other seasons due to the morphometric peculiarities of the lake (a narrow mountain valley), its large, high-altitude drainage basin, and the significant number of permanent and temporary tributaries. Accelerated water exchange in the lake and, consequently, the instability of water masses, ensure greater involvement of benthic algae and periphyton in the plankton community;
- high values of the Shannon-Weaver diversity index (up to 2.16 in abundance and up to 2.43 in biomass), which are in the middle of the range reported for Lake Teletskoye as a result of long-term studies of its phytoplankton (0.35–3.01 and 0.23–3.20, respectively), may indicate the formation of the under-ice algal community.

Acknowledgements

This study was carried out under state contract No. FUFZ-2026-0005. The author is grateful to V.V. Kirillov, M.I. Koveshnikov, A.V. Dyachenko, and I.A. Sutorikhin, staff members of the Aquatic Ecology, Hydrology, and Informatics laboratories at Institute for Water and Environmental Problems, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, for organizing and conducting winter phytoplankton sampling on Lake Teletskoye, as well as to R. Vorobyov and T. Klimenko, divers from the Altai State Biosphere Reserve.

Conflict of interests

The author declares no conflicts of interest.

References

Algae. Handbook. 1989. In: Wasser S.P., Kondratieva N.V., Masyuk N.P. et al. (Eds.). Kyiv: Nauk. Dumka. (in Russian)

Atlas and Key of the Baikal pelagobionts (with brief essays on their ecology). 1995. In: Timoshkin O.A., Mazepova G.F., Melnik et al. (Eds.). Novosibirsk: Nauka. (in Russian)

Barinova S.S., Belous E.P., Tsarenko P.M. 2019. Algal indication of water bodies of Ukraine: methods and prospects. Haifa, Kyiv: Haifa University Press. (in Russian)

Bashenkhaeva M.V., Zakharova Yu.R. 2017. Cultivated bacteria from subglacial algal-bacterial communities of Lake Baikal. Acta Biologica Sibirica 3(3): 76–85. (in Russian)

Bashenkhaeva M.V., Zakharova Y.R., Galachyants Y.P. et al. 2025. High abundance and diversity of flagellates under ice cover in Lake Baikal revealed by microscopy and metabarcoding. Journal of Great Lakes Research 51(3): 102545. DOI: 10.1016/j.jglr.2025.102545

Bayliss P., Ellis-Evans J.C., Laybourn-Parry J. 1997. Temporal patterns of primary production in a large ultra-oli-

gotrophic Antarctic freshwater lake. Polar Biology 18: 363–370.

Bondarenko N.A., Obolkina L.A., Timoshkin O.A. 2004. Ice – the keeper of life. Science First Hand 1(2): 77–82. (in Russian)

Bondarenko N.A., Shchur L.A. 2008. Cryptophyta of water bodies and watercourses of Eastern Siberia (Russia). Algologia 18(4): 408–422. (in Russian)

Bonilla S., Villeneuve V., Vincent W.F. 2005. Benthic and planktonic algal communities in a high arctic lake: pigment structure and constricting responses to nutrient enrichment. Journal of Phycology 41: 1120–1130.

Bulter H.G., Edworthy M.G., Ellis-Evans J.C. 2000. Temporal plankton dynamics in an oligotrophic maritime Antarctic Lake. Freshwater Biology 43: 215–230.

Danilov R.A., Ekelund N.G.A. 2001. Phytoplankton communities at different depths in two eutrophic and two oligotrophic temperate lakes at higher latitude during the period of ice cover. Acta Protozoologica 40: 197–201.

GOST 17.1.3.07-82. 1982. Hydrosphere. Rules for Monitoring the Water Quality in Reservoirs and Watercourses. Moscow: Publishing House of Standards. (in Russian)

Diatoms of the USSR (fossil and modern). 1992. In: Glezer Z.I., Makarova I.V., Moiseeva A.I. et al. (Eds.). II(2). St. Petersburg: Science. (in Russian)

Graham J.M., Kent A.D., Lauster G.H. et al. 2004. Seasonal dynamics of phytoplankton and planktonic protozoan communities in a Northern temperate humic lake: diversity in a dinoflagellate dominated system. Microbial Ecology 48: 528–540.

Guiry M.D. 2024. How many species of algae are there? A reprise. Four kingdoms, 14 phyla, 63 classes and still growing. Journal of Phycology 60: 214–228.

Guiry M.D., Guiry G.M. 2026. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. URL: https://www.algaebase.org (searched on 30 June).

Judd K.E., Adams H.E., Bosch N.S. et al. 2005. A case history: effects of mixing regime on nutrient dynamics and community structure in Third Sister Lake, Michigan during late winter and early spring 2003. Lake and Reservoir Management 21(3): 316–329.

Hampton S.E., Galloway A.W.E., Powers S.M. et al. 2017. Ecology under lake ice. Ecology Letters 20: 98–111.

Karnaukhov D., Zausaeva N., Ermolaeva Ya. et al. 2019. Features of “outbreaks” in the abundance of *Gymnodinium baicalense* and *Gymnodinium coeruleum* (Dinophyta) in Lake Baikal. Acta Biologica Sibirica 5(4): 109–113. DOI: 10.14258/abs.v5.i4.7143

Katz S.L., Izmest’eva L.R., Hampton S.E. et al. 2015. The “Melosira years” of Lake Baikal: winter environmental conditions at ice onset predict under-ice algal blooms in spring. Limnology and Oceanography 60: 1950–1964.

Kelley D. 1997. Convection in ice-covered lakes: effects on algal suspension. Journal of Plankton Research 19: 1859–1880.

Kirillin G., Leppäranta M., Terzhevik A. et al. 2012. Physics of seasonally ice-covered lakes: a review. Aquatic Sciences 74: 659–682.

Kiselev I.A. 1954. Pyrophytic algae. Moscow: Sovetskaya nauka. (Key to freshwater algae of the USSR; issue 6). (in Russian)

Ksendzenko L.S., Boyko L.A., Shishkin A.V. 2025. Elements of correlation theory: a textbook for universities. FEFU Polytechnic Institute. Vladivostok: Dalnevost. Federal. University. 1 CD. Text: electronic. (in Russian)

Lavrentyeva G.M. 1986. Phytoplankton of small fertilized lakes. Moscow: Agropromizdat. (in Russian)

Laybourn-Parry J., Marchant H.J., Brown P. 1991. The plankton of a large oligotrophic freshwater Antarctic Lake. Journal of Plankton Research 13(6): 1137–1149.

Laybourn-Parry J., Bayliss P. 1996. Seasonal dynamics of the plankton community in Lake Druzhby, Princess Elizabeth Land, Eastern Antarctica. Freshwater Biology 35: 57–67.

Laybourn-Parry J., Quayle W.C., Henshaw T. et al. 2001. Life on the edge: the plankton and chemistry of Beaver Lake, ultra-oligotrophic epishelf lake, Antarctica. Freshwater Biology 46: 1205–1217.

Lepneva S.G. 1937. Thermals, transparency, color, and chemistry of Lake Teletskoye water. Study of lakes in the USSR. 9. Leningrad, pp. 3–105. (in Russian)

Lepneva S.G. 1950. Life in lakes. Life of fresh waters in the USSR. 3. Moscow–Leningrad: Publishing House of the USSR Academy of Sciences, pp. 257–552. (in Russian)

Lizotte M.P., Priscu J.C. 1992. Photosynthesis-irradiance relationships in phytoplankton from the physically sTable water column of a perennially ice-covered lake (Lake Bonney, Antarctica). Journal of Phycology 28: 179–185.

Matvienko A.M. 1954. Golden algae. Moscow: Sovetskaya nauka. (Key to freshwater algae of the USSR; issue 3). (in Russian)

McKnight D.M., Howes B.L., Taylor C.D. et al. 2000. Phytoplankton dynamics in a stably stratified Antarctic Lake during winter darkness. Journal of Phycology 36: 852–861.

Menshutkin V.V., Kozhova O.M., Ashchepkova L. Ya. 1978. Functional model of the Lake Baikal ecosystem. Hydrobiological Journal 14(3): 3–10. (in Russian)

Mitrofanova E.Yu. 2000. Phytoplankton of Lake Teletskoye (Altai Mountains, Russia): Cand. Sc. Dissertation. Moscow: Moscow State University. (in Russian)

Mitrofanova E.Yu. 2003. Preliminary data on the relationship between phyto- and zooplankton in Lake Teletskoye (Altai Mountains, Russia). In: Trophic Relationships in Aquatic Communities and Ecosystems: Proc. Int. Conf. Borok: IBVV Publishing House, pp. 90–91. (in Russian)

Mitrofanova E.Yu., Kirillov V.V., Kotovshchikov A.V. 2006. Subglacial phytoplankton of a deep oligotrophic lake. Polzunovsky Vestnik 2–1: 327–333. (in Russian)

Mitrofanova E.Yu., Koveshnikov M.I., Krylova E.N. 2024. Composition and abundance of phytoplankton and zoobenthos in the northwestern shallows of Lake Teletskoye during freeze-up. Field studies in the Altai Biosphere Reserve. 6. Gorno-Altaysk: Altai State Nature Reserve, pp. 158–167. (in Russian)

Mitrofanova E.Yu., Koveshnikov M.I., Krylova E.N. 2025. Hydrobiocenoses under the ice of a large bay of Lake Teletskoye (Altai, Russia) Field studies in the Altai Biosphere Reserve. 7. Gorno-Altaysk: Altai State Nature Reserve, pp. 113–123. (in Russian)

Mitrofanova E.Yu., Sutchenkova O.S., Lovtskaya O.V. 2016. Lake Teletskoye (Altai, Russia): reconstruction of the environment and prediction for its changes according to the composition and quantity of diatoms in the bottom sediment. Russian Geology and Geophysics 57: 1243–1255.

Munawar M., Munawar I. 1978. Phytoplankton Lake Superior 1973. Journal of Great Lakes Research 4: 415–442.

Obertegger U., Flaim G., Corradini S. et al. 2022. Multi-annual comparisons of summer and under-ice phytoplankton communities of a mountain lake. Hydrobiologia 849: 4613–4635. DOI: 10.1007/s10750-022-04952-3

Obolkina L.A., Bondarenko N.A., Doroshchenko L.F. et al. 2000. On the discovery of a cryophilic community in Lake Baikal. Doklady Akademii nauk SSSR [Reports of the USSR Academy of Sciences] 371(6): 815–817. (in Russian)

Popovskaya G.I. 1978. Phytoplankton. Problems of Baikal. Novosibirsk: Nauka, pp. 158–169. (in Russian)

Popovskaya G.I., Genkal S.I., Likhoshway Ye.V. 2002. Diatoms of the plankton of Lake Baikal. Atlas and Key. Novosibirsk: Nauka. (in Russian)

Popovskaya G., Bondarenko N., Usol'tseva M. 2008. Spring diatom plankton of Lake Baikal. In: Central European Diatom Meeting (CEDIATOM2) Trentino Nature & Science Museum, Trento, Italy, 12–15 June 2008. Abstract Book (M. Cantonati, A. Scalfi & E. Bertuzzi Eds.), pp. 50.

Roberts E.C., Laybourn-Parry J. 1999. Mixotrophic cryptophytes and their predators in the Dry Valley lakes of Antarctica. Freshwater Biology 43: 737–746.

Roberts E.C., Priscu J.C., Laybourn-Parry J. 2004. Microplankton dynamics in a perennially ice-covered Antarctic lake-Lake Hoare. Freshwater Biology 49: 853–869.

Salmaso N., Decet F., Cordella P. 1999. Understanding deep oligotrophic subalpine lakes for efficient management. Hydrobiologia. 395/396: 253–263.

Seaburg K.G., Kaspar M., Parker B.C. 1983.Photosynthetic quantum efficiencies of phytoplankton from perennialy ice covered antarctic lakes. Journal of Phycology 19: 446–452.

Selegei V.V., Selegei T.S. 1978. Lake Teletskoye. Leningrad: Gidrometeoizdat. (in Russian)

Selegei V., Dehandschutter B., Klerks J. et al. 2001. Physical and geological environment of Lake Teletskoye. Annales - Sciences Geologiques 105.

Sommer U. 1986. The periodicity of phytoplankton in Lake Constance (Bodensee) in comparison to other deep lakes of central Europe. Hydrobiologia 138: 1–7.

Shkundina F.B. 1983. Seasonal Dynamics of Phytoplankton in Some Lakes of the World. Hydrological Journal XIX(6): 3–8. (in Russian)

Singer J.A. 2026. Does Lake Superior Freeze? How Ice Forms on the Great Lakes. URL: https://daytripper28.com/does-lake-superior-freeze (дата обращения: 20.07.2026)

Sukhoparova E.Yu. 1995. Comparative characteristics of winter phytoplankton of Volkhov Bay and Petrokrepost Bay, Lake Ladoga. Collection of scientific papers of GOSNIIORKh 314: 135–145. (in Russian)

Tranvik L.J., Downing J.A., Cotner J.B. et al. 2009. Lakes and reservoirs as regulators of carbon cycling and climate. Limnology and Oceanography 54(6, part 2): 2298–2314.

Trifonova I.S. 1990. Ecology and succession of lake phytoplankton. Leningrad: Nauka. (in Russian)

Unified Methods of Water Quality Study: Part 3. 1977. Methods of Biological Analysis of Water. Appendix 2. Atlas of Saprobic Organisms. Moscow. (in Russian)

Unified Methods of Water Quality Study: Part 3. 1983. Methods of Biological Analysis of Water. Moscow. (in Russian)

Vasseur D.A., Gaedke U., McCann K.S. 2005. A seasonal alternation of coherent and compensatory dynamics occurs in phytoplankton. Oikos 110: 507–514.

Verkhozina V.A., Kusner Yu.S., Pavlova T.V. et al. 2000. Manifestation of climatic variability in the periodicity of plankton productivity in Lake Baikal. Doklady Rossiiskoi Akademii nauk [Reports of the Russian Academy of Sciences] 374(2): 252–254. (in Russian)

Votintsev K.K. 1986. Formation of water quality in Lake Baikal. Hydrobiological journal 22(4): 3–9. (in Russian)

Watson S.B., Satchwill T., Dixon E. et al. 2001. Under-ice and source-water odour in a nutrient-poor reservoir: biological, ecological and applied perspectives. Freshwater Biology 46: 1553–1567.

Wright R.T. 1964. Dynamics of a phytoplankton community in ice-covered lake. Limnology and Oceanography IX (2): 163–178.

Wüest A., Pasche N., Ibelings B.W. et al. 2019. Life under ice in Lake Onego (Russia) - an interdisciplinary winter limnology study. Inland Water Biology 9(2): 25–129. DOI: 10.1080/20442041.2019.1634450

Yasnitsky V.N., Skabichevsky A.P. 1957. Phytoplankton of Lake Baikal. Proceedings of the Baikal Limnological Station XV: 212–261. (in Russian)

Zavoruev V.V., Levin L.A., Granin N.G. 1995. Distribution of subglacial and ice phytoplankton of Lake Baikal. Doklady Rossiiskoi Akademii nauk [Reports of the Russian Academy of Sciences] 344(5): 705–708. (in Russian)

Zinoviev A.T., Mitrofanova E.Yu., Tretyakova E.I. et al. 2012. Comprehensive Studies of Lake Teletskoye: Thermal Regime, Hydrochemical, and Hydrobiological Characteristics. Water and Environmental Problems of Siberia and Central Asia: Proceedings of the All-Russian Scientific Conf. (August 20–24, 2012, Barnaul) in 3 volumes. Barnaul: Pyat Plus, pp. 42–47. (in Russian)

Zuikova E.N. 1998. Current state of the zooplankton community of Lake Teletskoye. Cand. Sc. Dissertation. Krasnoyarsk: KSU. (in Russian)

Оригинальная статья

Особенности подледной вегетации водорослей в планктоне глубоких холодноводных озер (на примере Телецкого озера, Алтай, Россия)

Митрофанова Е.Ю.

Институт водных и экологических проблем Сибирского отделения Российской Академии наук, ул. Молодёжная, 1, Барнаул, 656038, Россия

АННОТАЦИЯ. Подледный фитопланктон изучали в широтной части Телецкого озера в 1997, 2006, 2018, 2023 и 2024 гг. при различной ледовой обстановке – частичный и полный ледостав. Выявлено, что в подледный период снижается общее разнообразие и обилие фитопланктона по сравнению с периодом открытой воды в вегетационный период весна-лето-осень. При мощном ледовом покрытии и толстом слое снега преимущественное развитие по численности получают диатомеи и флагелляты – группа мелкоклеточных центрических *Pantocsekiella teletskoyensis*, *Stephanodiscus minutulus*, *S. binatus* и *Stephanocostis chantaicus* и криптофитовая водоросль *Komma caudata*. Данные виды доминируют по численности и в период открытой воды. Крупные представители, например, *Mallomonas alpina* из золотистых водорослей периодически вносят значительный вклад в биомассу фитопланктона. В целом, в пелагиали разнообразие и обилие фитопланктона ниже, чем на литоральных участках. При устойчивом ледоставе, но с тонким льдом и незначительным слоем снега в подледном фитопланктоне Телецкого озера преимущественное развитие получают цианобактерии, во всех остальных случаях – диатомовые и криптофитовые водоросли. На литоральных участках (с глубинами до 30 м) донные формы и обитатели перифитона в основном из диатомей вносят существенный вклад в разнообразие и обилие зимнего подледного фитопланктона, особенно в его биомассу. В целом, развитие фитопланктона подо льдом Телецкого озера при различной ледовой обстановке было от предельно низкого до среднего для данного водоема уровня. За период 1989–1997 гг. биомасса фитопланктона изменялась в пределах от 0.5 до 1207.5 мг/м^3 при средней за сезон около 150 мг/м^3 (Митрофанова, 2000). В зимнем фитопланктоне величина средней биомассы за четыре года исследования составила 94.3 ± 21.3 мг/м^3 (для всего массива данных) или 175.3 ± 28.7 мг/м^3 (для слоя 0–10 м), из чего следует, что по шкале трофности озер И.С. Трифоновой (1990) Телецкое озеро можно отнести к ультраолиготрофным водоемам (0–500 мг/м^3). Высокие значения индекса разнообразия Шеннона-Уивера могут свидетельствовать о сформированности подледного сообщества водорослей.

Ключевые слова: подледный фитопланктон, диатомовые водоросли, криптофитовые и золотистые флагелляты, глубокие холодноводные озера, Телецкое озеро, Алтай

Для цитирования: Митрофанова Е.Ю. Особенности подледной вегетации водорослей в планктоне глубоких холодноводных озер (на примере Телецкого озера, Алтай, Россия) // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - С. 584-620. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-584

1. Введение

В последнее время значительно возрос интерес к ледовому сезону в озерах в связи с изучением реакции водоемов средних и высоких широт на глобальное потепление (Hampton et al., 2017) и в целом изучения жизни подо льдом (Wüest et al., 2019). Существовали даже специальные проекты по изучению жизни подо льдом, как, например, в Онежском озере, где с 2015 по 2017 гг. исследователи проводили изучение физических, биохимических и биологических процессов в подледный период в проекте «Жизнь подо льдом» («Life Under Ice») (Wüest et al., 2019). В озерах умеренных, субарктических и арктических широт лед может устанавливаться ежегодно полностью или частично, или вовсе не каж-

*Автор для переписки. Адрес e-mail: mitelena-09@mail.ru (Е.Ю. Митрофанова)

Поступила: 01 июля 2026;
Принята после доработки: 20 августа 2026;
Опубликована online: 28 августа 2026

© Автор(ы) 2026. Эта работа распространяется под международной лицензией Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.

дый год, причем образование льда сильно зависит от региональных климатических условий (Kirillin et al., 2012). Такие водоемы являются важным звеном в глобальном цикле углерода – они через речные системы переносят углерод в океан, депонируют его в своих донных отложениях и выделяют в атмосферу парниковые газы, диоксид углерода и метан (Tranvik et al., 2009). При этом считают, что в период таяния льда из сезонно покрытых льдом озер выделяется примерно 50% годового выброса парниковых газов в атмосферу. В зимний период условия для роста и развития водорослей в водоемах умеренной зоны существенно отличаются от таковых в летний. Но жизнь в водоемах не замирает. Отмечают, что подо льдом в водных экосистемах на границе раздела фаз «вода-лед» формируются особые сообщества, состоящие из микроводорослей, простейших и бактерий (Башенхаева и Захарова, 2017). Специфические сообщества микроорганизмов образуются и в пустотах самого льда как, например, в байкальском льду, где в межкристаллической воде успешно размножаются криофильные организмы (Оболкина и др., 2000). Кроме того, в период между интенсивным намерзанием и таянием пресного льда его нижняя поверхность может обрастать водорослями, что было впервые обнаружено на реке Амур (Бондаренко и др., 2004). Но при всей значимости и большей загадочности ледового периода для озер и Земли в целом этому гидрологическому периоду уделяется не так много внимания и в том числе водорослям.

В разных климатических зонах зимой в фитопланктоне чаще развиваются диатомовые водоросли, а также фитофлагелляты из золотистых и криптофитовых водорослей (Шкундина, 1983; Obertegger et al., 2022; Bashenkhaeva et al., 2025), в том числе в холодноводных глубоких озерах с длинным периодом перемешивания и коротким интервалом стратификации (Munawar and Munawar, 1978). Причем фитофлагелляты развиваются в озерах как с ледовым покрытием, так и без него (Salmaso et al., 1999). Сосредоточены водоросли, в том числе фитофлагелляты, подо льдом в основном в верхних горизонтах, причем на это больше влияют свет и наличие бактерий, чем количество биогенов (Watson et al., 2001), ведь большинство фитофлагеллят способны к гетеротрофному питанию. Подо льдом биомасса водорослей может увеличиваться значительно и создавать эффект цветения, как, например, в Байкале, где весенний максимум, единственный в году (Яснитский и Скабичевский, 1957), обусловлен развитием диатомовых и перидиниевых водорослей (Меншуткин и др., 1978; Поповская, 1978; Katz et al., 2015), чему способствует толстый байкальский лед и пустоты в нем (Карнаухов и др., 2019). Подобное наблюдают и в других глубоких озерах мира (Верхозина и др., 2000), но при меньшем обилии.

В Телецком озере период ледостава относится к периоду зимнего минимума (январь-апрель) (Лепнева, 1937; 1950). В озере отсутствует ежегодное образование сплошного ледового покрова (более чем в 70% случаев за 65 лет наблюдений с 1913 по 1978). При этом широтная часть озера (частично или полностью) замерзает ежегодно, меридиональная – периодически (Селегей и Селегей, 1978). Фитопланктон в подледный период изучали в январе-марте 1997 г., марте 2006, январе и феврале 2018, апреле 2023 и марте 2024 г. Ранее эти материалы были частично представлены в отдельных публикациях (Митрофанова, 2000; Митрофанова и др., 2006; 2024; 2025). Сравнение и обобщение сделано впервые.

Цель работы – выявление особенностей развития фитопланктона в Телецком озере в период ледостава при различной ледовой обстановке.

2. Материалы и методы

Исследование зимнего фитопланктона проводили в январе-марте 1997 г. на ст. 5 (горизонты 0, 10, 50, 100, 200 и 250 м), марте 2006 г. на ст. 5 (0, 5, 10, 30, 50, 100 и 200 м), 8 (0, 5 и 10 м) и 9 (0 м), январе и феврале 2018 г. на ст. 5а (пробы отбирали водолазы вдоль по склону на глубинах 0, 10 и 20 м), апреле 2023 г. на ст. 8 (0,2, 0,6 и 0,8 м), 7 (0,6, 6,5 и 13 м), и 6 (0,6, 4 и 8 м) и марте 2024 г. на ст. 1 (0 м) и 2 (0, 10 и 20 м), 3 (0, 10 и 20 м) и в открытой части озера на выходе из залива – ст. 4. (0, 10 м) (Рис. 1, Таблица 1). В 1997 г. озеро покрылось льдом во всей широтной части озера, 2006 и 2018 гг. – полный ледостав, 2023 и 2024 гг. замерзшими были Камгинский залив и северная широтная часть от истока р. Бии до м. Караташа и м. Ажи при открытой центральной части на стыке широтной и меридиональных частей озера (Рис. 2). Телецкое озеро расположено в горах Алтая на юге Западной Сибири. Это глубоководный (максималь-

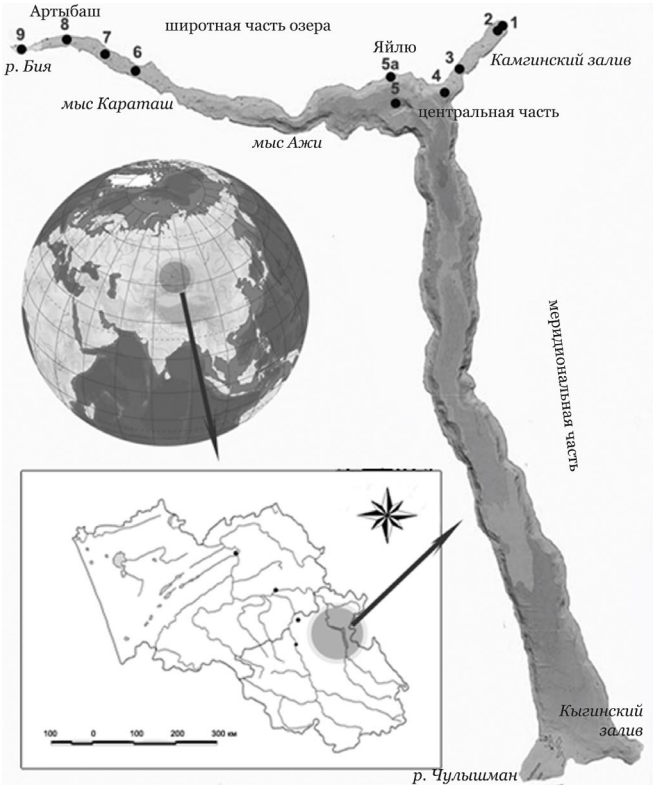


Рис.1. Карта-схема расположения Телецкого озера и точек отбора зимнего фитопланктона в разные годы (расшифровка номеров станций приведена в Таблице 1).

Таблица 1. Время и место отбора проб зимнего фитопланктона в Телецком озере

Время отбора		Станция		Координаты	Общая глубина, м	Толщина льда/ снега, см
год	дата	№	Название			
1997	5 января 10 февраля 15 марта	5	Яйлю, пелагиаль	51°45′06″N 87°36′43″E	254	- - 10-12/0-2
2006	8-10 марта	5	Яйлю, пелагиаль	51°45′06″N 87°36′43″E	254	39/30
		8	Артыбаш, пелагиаль	51°47′28″N 87°17′01″E	12	60/30
		9	Исток р. Бии	51°47′12″N 87°14′45″ E	0,3	-
2018	22 января 10 февраля	5а	Яйлю, литораль	51°46′00″N 87°35′59″E	0-20	- 10/3
2023	9-11 апреля	8	Артыбаш, пелагиаль	51°47′28″N 87°17′01″E	12	48/4
		7	Устье р. Тевенек, пелагиаль	51°46′15″N 87°21′52″E	13,4	41/1
		6	Около устья р. Ойер, ур. Кокаиха, пелагиаль	51°45′33″N 87°23′46″E	8,8	37/3
2024	18-25 марта	1	Камгинский з-в, устье р. Камги	51°48′03″N 87°43′20″E	4,9	25/3
		2	Камгинский з-в, устье р. Камги	51°47′48″N 87°43′08″E	31	35/5
		3	Камгинский з-в, устье р. Турочак	51°46′17″N 87°40′34″E	34	26/2
		4	мыс Айран	51°45′20″N 87°33′96″E	159	-

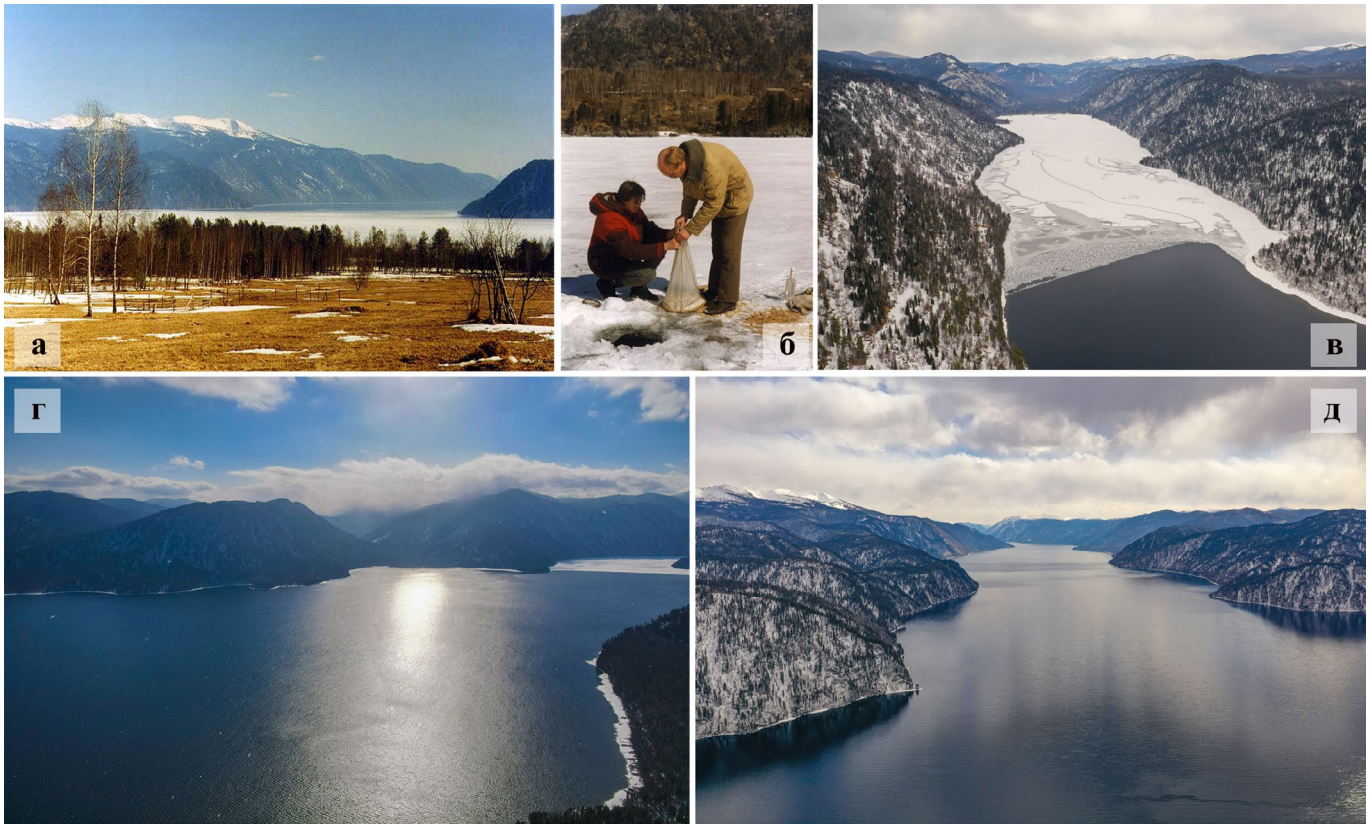


Рис.2. Ледовая обстановка на озере в марте 1997 (а-б) и 2022 (с-е) гг.: а – вид с террасы Яйлю на центральную часть озера (видна кромка льда), б – отбор проб, в – вид на Камгинский залив, г – вид в сторону п. Артыбаш, д – вид на меридиональную часть озера в южном направлении, свободную ото льда. Фото с квадрокоптера Р. Воробьева.

ная глубина до 323.3 м), пресноводный олиготрофный водоем с большим по площади водосборным бассейном (площадь водосборного бассейна превосходит площадь озера в 91 раз), значительным перепадом абсолютных высот (2288–434 м над ур. м., средняя высота бассейна над ур. м. составляет 1940 м), большим количеством притоков (70 постоянных и 150 временных) (Селегей и Селегей, 1978) с учащенной по сравнению с другими крупными и глубокими озерами мира смене воды в озере и значительным колебаниям уровня воды в течении года – максимальная годовая амплитуда колебания уровня может достигать 6 м. Соотношение основного притока и стока по рекам Чулышман (70–75 %) и Бия (98 %), расположенным на противоположных концах озера, соотношение длины и ширины озера определяют уровенный режим Телецкого как типично речной. Все эти факторы создают особый лимноклимат с низкой температурой воды и нестабильностью водных масс. По распределению глубин Телецкое озеро принято разделять на два плеса: глубоководный от устья р. Чулушмана до м. Карагаш с глубинами 100–300 м и северо-западный мелководный плес от м. Карагаш до истока р. Бии с глубинами 10–40 м. Глубоководный плес озера в поперечнике имеет правильную трапециевидную форму с относительно ровным дном и круто поднимающимися склонами котловины. (Selegei et al., 2001). Озеро вытянуто в меридиональном (часть глубоководного плеса) и широтном (мелководный и часть глубоководного плесов) направлениях, на стыке этих двух частей расположена центральная часть (у пос. Яйлю). В широтной части и исследовали зимний подледный фитопланктон. Меридиональная часть озера в зимний период практически недоступна.

Пробы объемом 1.5 л отбирали путем зачерпывания из-подо льда и батометром с разных горизонтов. В 2018 г. пробы отбирали водолазы вдоль по склону. Фиксировали 4%-ным формалином, сгущали отстойным методом, просматривали и подсчитывали в камере Нажотта объемом 0.01 мл. Биомассу фитопланктона определяли счетно-объемным методом. Для электронной микроскопии пробы профильтровывали (объем 10–50 мл) на фильтры Millipore и Владипор диаметром 10 мм с порами около 0.7-0.8 мкм, промывали 70%-ным этиловым спиртом, высушивали, наклеивали с помощью двустороннего скотча на «столики» для электронного микроскопирования, напыляли Au-Pd смесью, просматривали на СЭМ Hitachi S-3400N. Таксономические названия водорослей приведены в соответствие с электронным ресурсом AlgaeBase (Guiry and Guiry, 2026), но некоторые таксоны, найденные нами в Телецком озере и определенные в начале 2000-х гг., в этой системе в настоящее время отсутствуют. Разделение на крупные таксоны (отделы) сделано по системе, распространенной в альгологии во второй половине XX в. (Водоросли..., 1989), в которой диатомовые, золотистые и т.п. выступают как равновеликие единицы. В настоящее время (Guiry, 2024) многие отделы переведены в разряд классов. Так, отделы Bacillariophyta и Chrysophyta как классы Bacillariophyceae и Chrysophyceae объединены в отдел Heterocontophyta, Dinophyta – отдел Dinoflagellata, некоторые улотриксовые из отдела зеленых водорослей (род *Elakatothrix* Wille) – отдел Charophyta. Альгоиндикация сделана по монографии С.С. Бариновой с соавт. (2019). Сравнение состава зимнего фитопланктона в разные годы исследования сделано по Венну, корреляция с факторами среды (температура, толщина льда и снега) – по Спирмену (в пакете Excel Microsoft Office 2021). Тесноту линейной связи определяли по шкале Чеддока: 0–0.1 – нет, 0.1–0.3 – слабая, 0.3–0.5 – умеренная, 0.5–0.7 – заметная, 0.7–0.9 – высокая, 0.9–0.99 – очень высокая, 1 – функциональная (Ксендзенко и др., 2025). Классификация качества воды, основанная на величинах индекса сапробности по Пантле и Букку (в модификации Сладечека) (Унифицированные методы..., 1977; 1983), произведена по (ГОСТ 17.1.3.07-82).

3. Результаты

1997 год

Исследование фитопланктона проводили только на одной ст. 5, но в течение всего зимнего периода, охватывающего как ледостав (февраль-март), так и его отсутствие (январь). Для сравнения приведены данные за май, когда ледостав закончился и озеро полностью освободилось ото льда. Всего было выявлено 58 таксонов, при этом в пробах было отмечено по 9-15 таксонов. Численность фитопланктона за весь период исследования и для всех глубин изменялась в пределах 3.1–143.0 тыс.кл./л, биомасса – 1.8–105.6 мг/м^3 при средних величинах 42.5 ± 10.9 тыс.кл./л и 24.3 ± 8.4 мг/м^3, соответственно (Таблица 2). При этом в поверхностном слое диапазон изменения величин был меньше, а средние численность и биомасса – больше: 57.4–143.0 и 108.3 ± 26.0 тыс.кл./л и 10.9–105.6 и 59.1 ± 27.4 мг/м^3. Наибольшая численность отмечена именно в поверхностном слое (Рис. 3а) за счет развития цианобактерий (Рис. 3б), в основном из рода *Dolichospermum* (Bornet & Flahault) P.Wacklin, L.Hoffmann & Komárek (53.8–91.4%), *D. circinale* (Rabenhorst ex Bornet & Flahault) Wacklin, Hoffmann & Komárek (2.2–26.8%), а также *Microcystis pulverea* (H.C.Wood) Forti (84.3%) и *Anathece clathrata* (West & G.S.West) Komárek, Kaštovský & Jezberová (5.8-82.6%).

В феврале цианобактерии достигли максимума своего развития в подледном слое (135.1 тыс. кл./л, 94.4%). К середине марта общая численность фитопланктона снизилась, но доля цианобактерий в ней осталась почти на прежнем уровне (94.0%) с теми же доминантами. Субдоминировали в январе и далее в мае криптофитовая водоросль *Komma caudata* (L.Geitler) D.R.A.Hill и группа мелкоклеточных центрических диатомей *(P+S+S)* – *Pantocsekiella teletskoyensis* Genkal et Mitrofanova sp. nov., *Stephanodiscus minutulus* (Kütz.) Cl. et Möll., *S. binatus* Håkansson et H.J. Kling и *Stephanocostis*

Таблица 2. Таксономическое разнообразие и обилие зимнего фитопланктона в Телецком озере в разные годы

Показатели		Год			
Наименование	Диапазон	1997	2006	2023	2024
Общее число таксонов		58	61	64	54
Число таксонов в пробе		6-23	9-23	9-22	8-25
Численность, тыс. кл./л	пределы	3,1-143,0	5,7-117,7	42,0-206,2	46,0-380,7
	средняя	42,5 ± 10,9	40,8 ± 11,0	141,4 ± 16,4	238,7 ± 36,2
Биомасса, мг/м^3	пределы	1,8-105,6	6,1-62,9	176,5-514,5	76,0-344,0
	средняя	24,3 ± 8,4	27,1 ± 5,8	350,0 ± 32,6	195,0 ± 33,0

chantaicus Genkal et Kuzmina. Биомасса фитопланктона в поверхностном горизонте в зимне-весенний период была наибольшей в марте при доминировании цианобактерий (48.9% от общей биомассы). После подледного развития в феврале-марте произошло резкое снижение биомассы фитопланктона в мае (см. Рис. 3а), при этом почти равный вклад в общую биомассу вносили как цианобактерии (35.2%), так и криптофитовые (35.0%) водоросли, но доля в численности цианобактерий была еще большой (см. Рис. 3б). Наибольшая доля диатомей в общей биомассе отмечена в феврале при незначительной роли в сложении общей численности за счет донных форм, например, *Paraplaconeis placentula* (Ehr.) Kulikovskiy & Lang.-Bert.

Максимум биомассы фитопланктона не всегда был приурочен к подледному слою. Например, в феврале подо льдом наибольшая биомасса фитопланктона была зафиксирована на глубине 50 м за счет преобладания диатомовых водорослей (52.8%), в том числе донной формы *Surirella minuta* Bréb. ex Kütz. (46.6%) при совсем невысокой ее численности (1.2 тыс.кл./л или 3.9%).

При анализе корреляционных связей между численностью и биомассой фитопланктона, а также долей диатомовых водорослей и цианобактерий в общей численности, с одной стороны, и толщиной льда и снега – с другой, выявлена высокая отрицательная зависимость доли цианобактерий от толщины льда и снега (Таблица 3).

2006 год

В подледном фитопланктоне в широтной части озера было выявлено 49 видов (54 вида, разновидности и формы) из 8 отделов при значительном разнообразии диатомовых водорослей – 66%. Вторыми по числу видов были криптофитовые водоросли – 12%. При сравнении состава фитопланктона на разных станциях было отмечено, что соотношение отделов по числу видов имело сходный характер – диатомеи и криптофитовые занимали ведущее положение. Кроме того, таксономический состав фитопланктона на каждой станции имел большое сходство между собой – 55–65%. Причем выделяется ст. 5, в видовой состав фитопланктона которой на 60–65% были

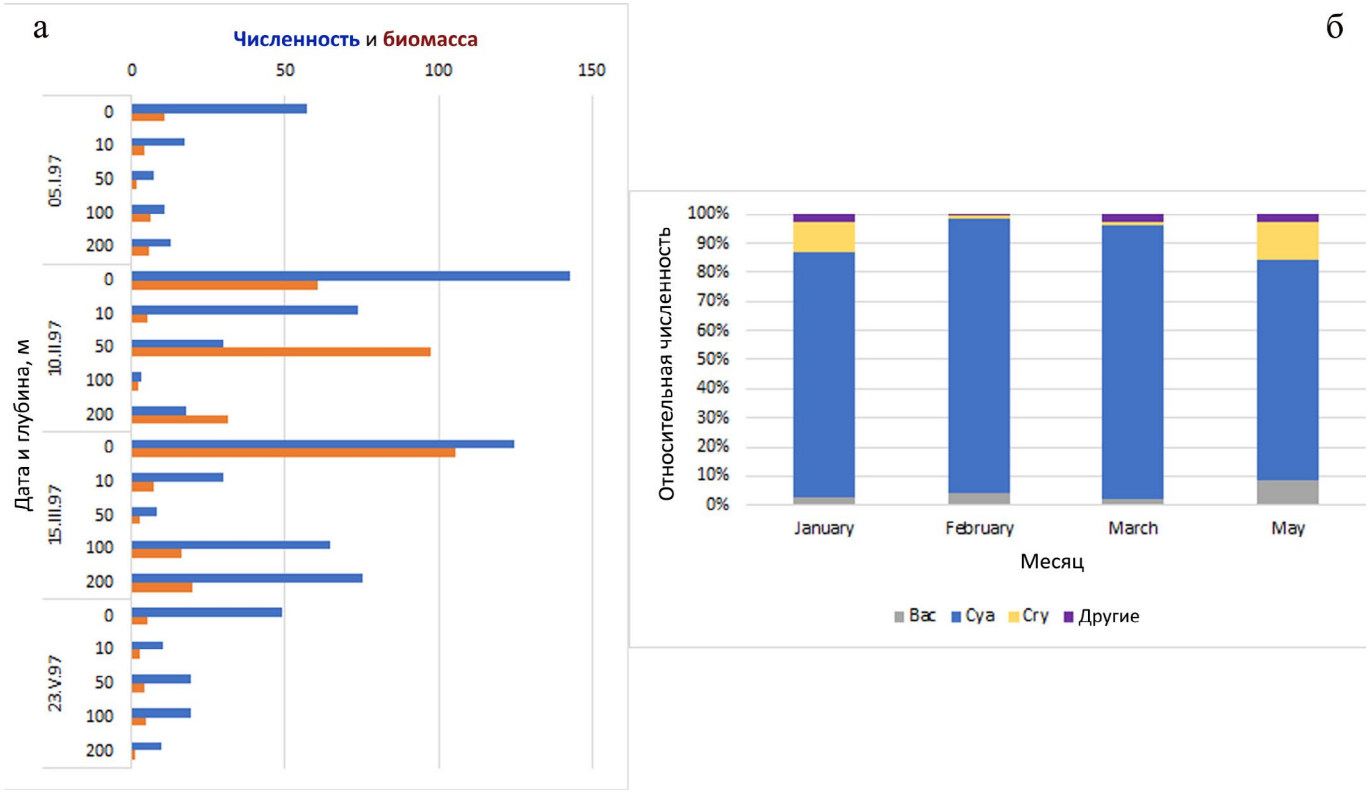


Рис.3. Изменение численности (тыс.кл./л) и биомассы (мг/м^3) фитопланктона в Телецком озере (ст. 5) в зимний период 1997 г.: абсолютные значения по датам и глубинам (а) и относительная численность отделов водорослей в поверхностном слое (б). Условные обозначения: Cya – Cyanobacteria, Bac – Bacillariophyta, Cry – Cryptophyta.

Таблица 3. Корреляционные коэффициенты Спирмена между показателями фитопланктона, доли цианобактерий и диатомовых водорослей и некоторых факторов среды в 1997 г. ($p < 0.05$)

Показатели		Фитопланктон		Доля в N	
		N	B	Cya	Bac
Толщина	снега	0.41	0.39	**-0.75**	0.29
	льда	0.40	0.41	**-0.79**	-0.44

Примечание: N – численность фитопланктона, B – биомасса, Cya – цианобастерии, Bac – диатомовые водоросли; жирным шрифтом выделены связи равные или выше 0.5

включены водоросли планктона со станций 8 и 9.

Число одновременно вегетирующих видов колебалось от 9 до 23 на разных станциях и глубинах (см. Таблица 2). Наименьшее число видов зафиксировано на ст. 5 у поверхности и в придонном слое на 200 м, наибольшее – на ст. 8 на 10 м. На глубоководной ст. 5 количество видов практически равномерно распределено по столбу воды – 9–15 видов, с максимальным сосредоточением на глубинах 5 и 10 м – 15 и 13 видов соответственно. Из центрических диатомовых водорослей фон планктона определяла группа $P+S+S$. Она встречались на всех станциях и глубинах. На более глубоких горизонтах в фитопланктоне появлялись крупноклеточные центрические водоросли – *Stephanodiscus alpinus* Hust. и *Lindavia bodanica* (Eulenst. ex Grun.) T.Nakov, Guillory, Julius, Theriot & Alverson. Так, на ст. 5 на глубине 200 м была обнаружена особенно крупная клетка *L. bodanica* – 45 мкм. Обычно, как в период открытой воды, так и подо льдом, размеры створок этого вида не превышают 30-36 мкм. За весь период исследования фитопланктона в Телецком озере (1989-2025 гг.) только в мае 1997 г. на ст.Яйлю на глубине 270 м была обнаружена створка диаметром 72 мкм, что является почти предельным размером, приводимым в литературе для данного вида – 80 мкм (Диатомовые водоросли..., 1992). На 30 м и ниже в пробах планктона присутствовала толстостенная колониальная диатомовая *Aulacoseira subarctica* (O.Müll.) Haw. Пеннатные диатомовые водоросли тоже появляются в фитопланктоне пелагиали на более глубоких горизонтах. Из криптофитовых наиболее значимы представители двух родов – *Komma* D.R.A.Hill и *Cryptomonas* Ehr. На горизонте 50 м отмечен бесцветный жгутиконосец *Goniomonas truncata* (Fres.) Stein (=*Cyatomonas truncata* (Fres.) Fisch.). Интересна находка редкого представителя золотистых водорослей *Stylochysallis libera* (Fott) Starm.[1], ранее для Телецкого озера не отмеченного. Эта водоросль отличается очень нежной структурой домика. Отмечен он был только до глубины 10 м на ст. 5 и только у поверхности на ст. 8. Кроме того, в фитопланктоне озера в этот период развивался крупный представитель этого отдела, холодолюбивый вид – *Mallomonas alpina* Pasch. & Rutt. Он был отмечен на ст. 5 на глубине 5 м и ст. 9. Следует отметить, что *Dinobryon divergens* Imh., обычный в планктоне озера на протяжении всего открытого периода, не был встречен в зимнем подледном планктоне. Из зеленых водорослей значительный вклад вносила *Scherffelia incisa* (Nyg.) Masjuk & Lilitsk из зеленых хламидомонад, встречающаяся и в другие сезоны года, как в пелагиали, так и литорали озера.

Численность и биомасса фитопланктона отмечены в пределах 5.7–117.7 тыс.кл./л и 6.1–62.9 мг/м^3 (Рис. 4а, см. Таблица 2). Максимальные и минимальные значения численности приурочены к ст. 5 – глубины 5 и 200 м, соответственно. Следует отметить, что доля диатомовых водорослей в пелагиали озера в общей численности фитопланктона

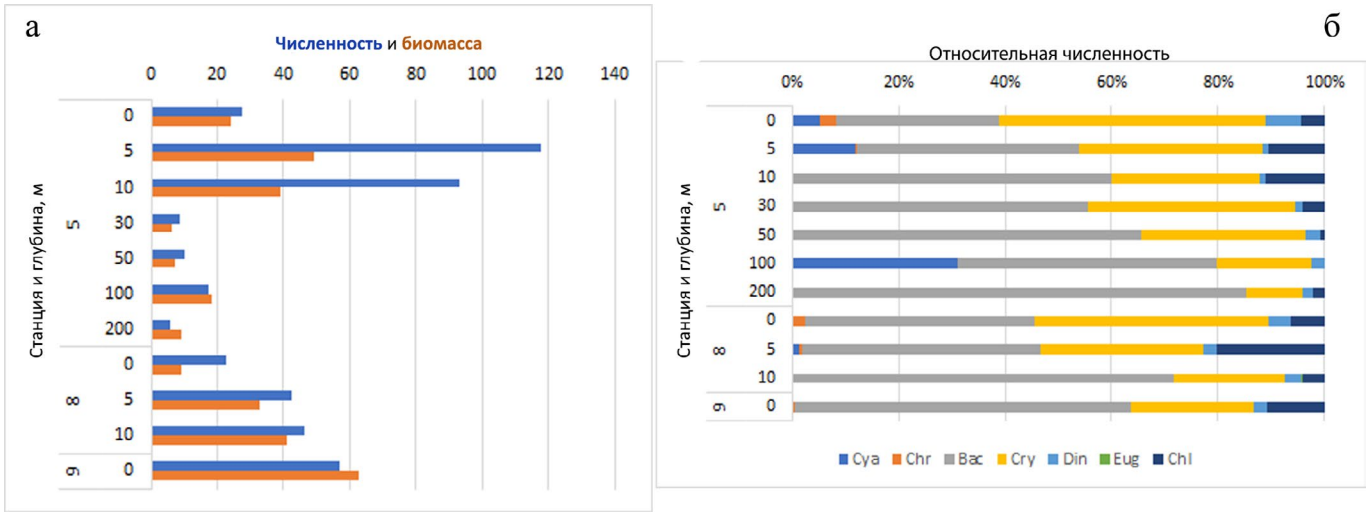


Рис.4. Изменение численности (тыс.кл./л) и биомассы (мг/м^3) фитопланктона в Телецком озере (ст. 5) в марте 2006 г.: абсолютные значения (а) и относительная численность отделов водорослей (б) по датам и глубинам. Условные обозначения: Cya – Cyanobacteria, Chr – Chrysophyta, Bac – Bacillariophyta, Cry– Cryptophyta, Din – Dinophyta, Eug – Euglenophyta, Chl– Chlorophyta.

[1] В AlgaeBase этот вид не указан, упоминание о нем есть у (Матвиенко, 1954).

увеличивалась с глубиной – с 30.6 до 85.4%, криптофитовых, соответственно, уменьшалась – 50.2–10.4% (Рис. 4б). Основной вклад в численность фитопланктона из диатомовых вносила группа $P+S+S$ – 23.6–47.9%, из криптофитовых *K. caudata* – 10.4–37.7%. Ввиду малых размеров этих диатомей и криптофитовой водоросли их доля в биомассе фитопланктона была незначительная: 1.5–6.0% и 1.1–13.0% соответственно.

Наиболее значимыми по вкладу в общую биомассу фитопланктона были неопределенный до вида представитель динофитовых водорослей (возможно, спора) (11.8–68.6%), крупноклеточные *A. subarctica* (16.1–31.9%) и *L. bodanica* (62.4%) из диатомей. В столбе воды в пелагиали озера биомасса фитопланктона, как и его численность, приурочены в основном к фотическому слою – 5–10 м. На ст. 8 скопление водорослей планктона обнаружено также не у поверхности, а на этих же горизонтах. Наблюдается та же тенденция вклада разных видов в общую численность и биомассу фитопланктона озера.

Анализ корреляционных связей между численностью, биомассой и количеством таксонов в фитопланктоне, а также долей группы $P+S+S$ в общей численности и биомассе, с одной стороны, и общей глубиной на станциях и толщиной льда (толщина снега на разных станциях была одинакова в период отбора) – с другой (Таблица 4) показал, что число таксонов имеет заметную отрицательную зависимость от глубины на станции.

2018 год

В литорали озера на стыке широтной и меридиональной частей озера (ст. 5а) зимой до ледостава и во время его было выявлено 53 таксона водорослей из шести отделов со значительным преобладанием диатомовых водорослей – 55% (Рис. 5а)[2]. На втором ранговом месте были зеленые водоросли (8 таксонов), три отдела (цианобактерии, золотистые и криптофитовые водоросли) имели по 4–6 таксонов, и динофитовые – один.

В планктоне литорали озера присутствовало по нескольку видов золотистых и криптофитовых флагеллят. Среди золотистых водорослей было выявлено три вида из рода *Mallomonas* Kristiansen – *M. elongata* Reverd., *M. acaroides* Perty и *M. producta* Iwanh.[3]. Среди криптофитовых отмечено четыре вида из рода *Cryptomonas* – *C. erosa* Ehr., *C. gracilis* Skuja, *C. marssonii* Skuja и *C. ovata* Ehr., а также *Rhodomonas pusilla* (H.Bachm.) Javornicky и *Komma caudata*, один из доминантов фитопланктона Телецкого озера по численности.

При сравнении состава и количества видов в фитопланктоне озера в январе и феврале следует отметить, что число видов уменьшилось с 39 до 29 видов, когда установилось ледовое покрытие, но соотношение осталось тем же (Рис. 5б). При этом 17 видов встречались в фитопланктоне озера и в январе, и феврале. Вероятно, при только что установившемся ледовом покрытии состав фитопланктона не претерпел еще кардинального изменения.

2023 год

Выявлено 62 таксона водорослей из шести отделов при наибольшем разнообразии диатомовых водорослей – 71.0%. Преобладание по разнообразию бентосных форм и перифитона может свидетельствовать о мелководности водоема на исследованном участке и большой значимости его литоральных участков, а также о большом вкладе береговых обрастаний его притоков. Второе ранговое место по разнообразию принадлежало зеленым водорослям, среди которых отмечены вольвоксовые и улотриксовые (представитель рода *Elakatothrix*), а также неопределенные до рода хлорококковые. В остальных отделах было выявлено по 2–3 таксона, т.е. зимний подледный фитопланктон был малоразнообразен по составу, что было отмечено ранее и подтверждено при настоящем исследовании.

Таксономическое разнообразие фитопланктона Телецкого озера на разных станциях и различных глубинах отмечено в пределах 9–22 при средней величине 16 ± 1 таксонов (см. Таблица 2). При этом на каждой станции в общем отмечено по почти одинаковому числу таксонов и почти одинаковому вкладу отдельных отделов водорослей в общий состав (Рис. 6а), т.е. подледный фитопланктон северной широтной части озера сходен по составу на разных станциях. Диатомовые водоросли составляли 70–71% от общего состава водорослей фитопланктона, зеленые – 9.7–20.0%. Выявлено, что в поверхностных горизонтах на двух станциях (8 и 7) число таксонов меньше, чем в более глубоких слоях воды, в то время как на ст. 6 наименьшее число таксонов было обнаружено в среднем горизонте.

Таблица 4. Корреляционные коэффициенты Спирмена между показателями фитопланктона, доли мелкоклеточных центрических диатомовых водорослей и некоторых факторов среды в марте 2006 г. ($p < 0.05$)

Показатели	Фитопланктон			Доля P+S+S в	
	N	B	n	N	B
Общая глубина	-0.03	-0.40	-0.59	-0.20	0.32
Толщина льда	-0.14	-0.42	-0.22	-0.20	-0.06

Примечание: N – численность фитопланктона, B – биомасса, n – число таксонов; жирным шрифтом выделены связи равные или выше 0.5

[2] Данные по этому году не приведены в Таблице 2, так как был изучен состав и структура фитопланктона без его количественных характеристик.

[3] В настоящее время это название вида не валидное.

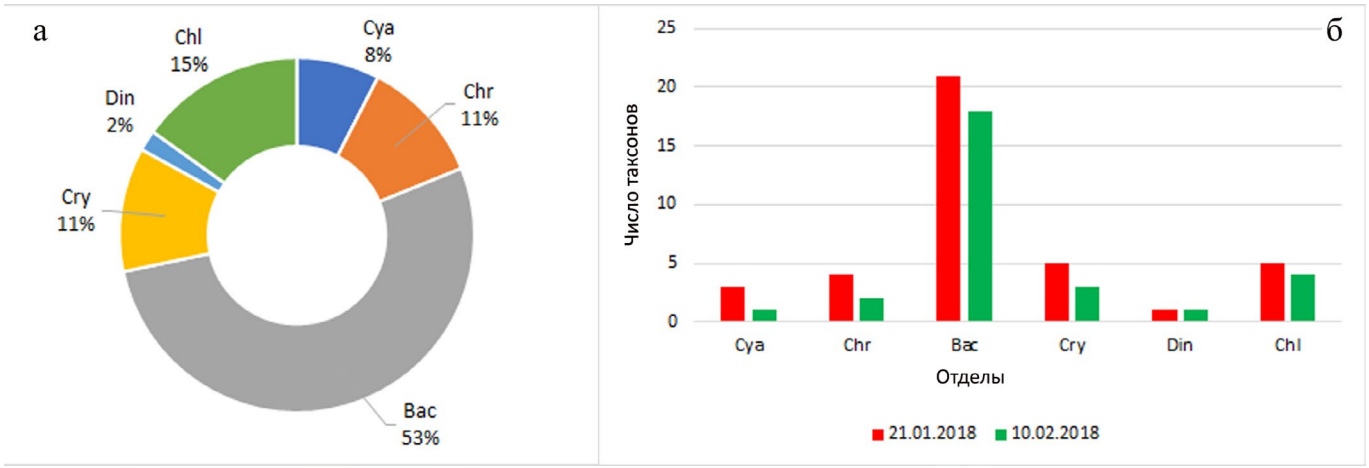


Рис.5. Доля отделов водорослей (а) в целом и распределение по срокам отбора (б) в фитопланктоне Телецкого озера (Яйлю, литораль) в 2018 г., число видов, %. Условные обозначения: Cya – Cyanobacteria, Chr – Chrysophyta, Bac – Bacillariophyta, Cry – Cryptophyta, Din – Dinophyta и Chl – Chlorophyta.

Численность фитопланктона в Телецком озере в подледный период была невысокая и изменялась в пределах 42.0–206.2 тыс.кл./л, тогда как его биомасса достигала и более высоких значений – 176.5–514.5 мг/м^3 при средних 141.4 ± 16.4 тыс. кл./л и 350.0 ± 32.6 мг/м^3, соответственно (Рис. 6б, см. Таблица 2). Доля диатомовых водорослей в численности фитопланктона составила 20.00–90.98% при средней для всего объема данных величине 59.08 ± 9.81%, в биомассе – 4.17–85.63% при средней 63.96 ± 10.24%. Зеленые водоросли занимали второе ранговое место по вкладу в численность и биомассу фитопланктона: доля в численности 1.01–68.57% при средней 21.46 ± 8.53% и доля в биомассе 3.71–87.18% при средней величине 23.71 ± 8.62%. На отдельных станциях и горизонтах значительным был вклад криптофитовых водорослей: доля в численности 1.45–34.07% при средней 13.36 ± 4.76% и доля в биомассе 0.89–37.54% при средней величине 7.91 ± 3.84%. Из диатомовых доминировал по численности комплекс мелкоклеточных диатомей *P*+*S*+*S*, имеющий 100%-ную встречаемость и 55.6% частоту доминирования, в то время как у криптофитовой водоросли *K. caudata* при 100%-ной встречаемости частота доминирования составляла 22.2%, т.е. значимость этих доминантов по численности сохранялась и в подледном фитопланктоне озера. В доминантном комплексе по биомассе были отмечены как мелкоклеточные представители планктона при их большом вкладе в численность, так и водоросли с более крупными по размеру клетками, в основном донные диатомеи. Так, комплекс мелкоклеточных *P*+*S*+*S*, имеющий 100%-ную встречаемость, доминировал по биомассе в 22.2% случаев, а *K. caudata* – в 11.1%, как и зеленая хламидомонада *Scherffelia incisa*. Средняя для станции численность фитопланктона увеличивается от 8 к 6 станции, т.е. по мере увеличения глубин, а средняя биомасса фитопланктона практически одинакова на всех станциях.

Исследовано развитие группы *P*+*S*+*S* в подледном фитопланктоне озера перед снеготаянием. В целом для всего обследованного участка озера вклад группы *P*+*S*+*S* составлял в численности от 8.6 до 57.7% при средней величине 30.3 ± 6.1%, биомассе – 2.3–24.1% при средней величине 14.1 ± 2.4%. При этом наибольший вклад группы *P*+*S*+*S* как в численность, так и биомассу фитопланктона был отмечен на ст. 8 (как максимальные, минимальные, так и средняя величины) (Рис. 7), т.е. на самой мелководной станции. Анализ корреляционных зависимостей показал, что число таксонов

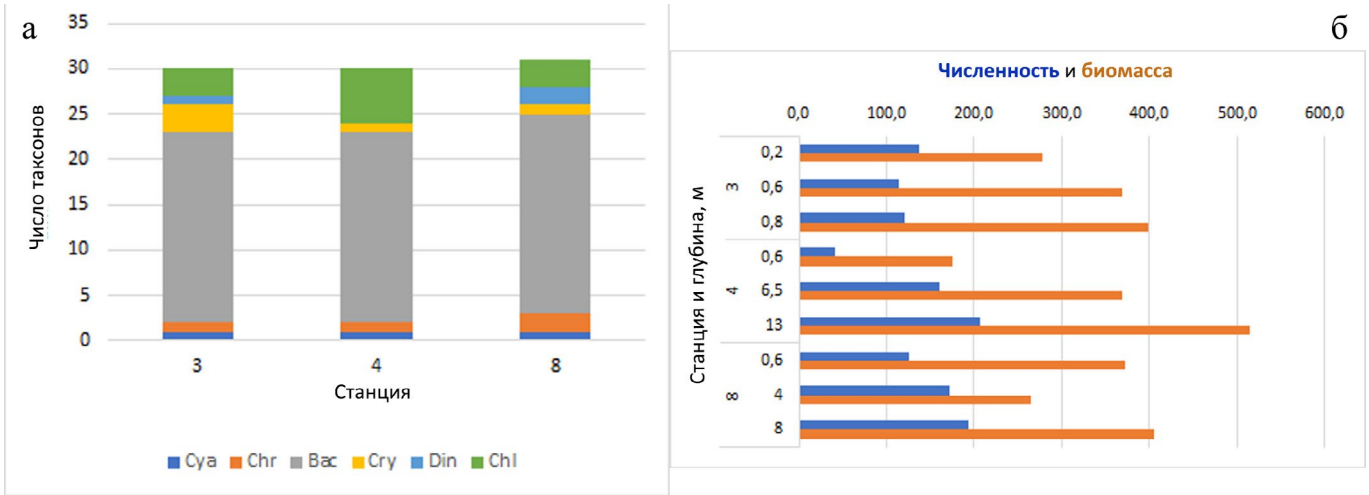


Рис.6. Соотношение отделов водорослей (а) и обилие (б) фитопланктона (численность (тыс.кл./л) и биомасса (мг/м^3)) в Телецком озере в апреле 2023 г. Условные обозначения: Cya – Cyanobacteria, Chr – Chrysophyta, Bac – Bacillariophyta, Cry – Cryptophyta, Din – Dinophyta и Chl – Chlorophyta.

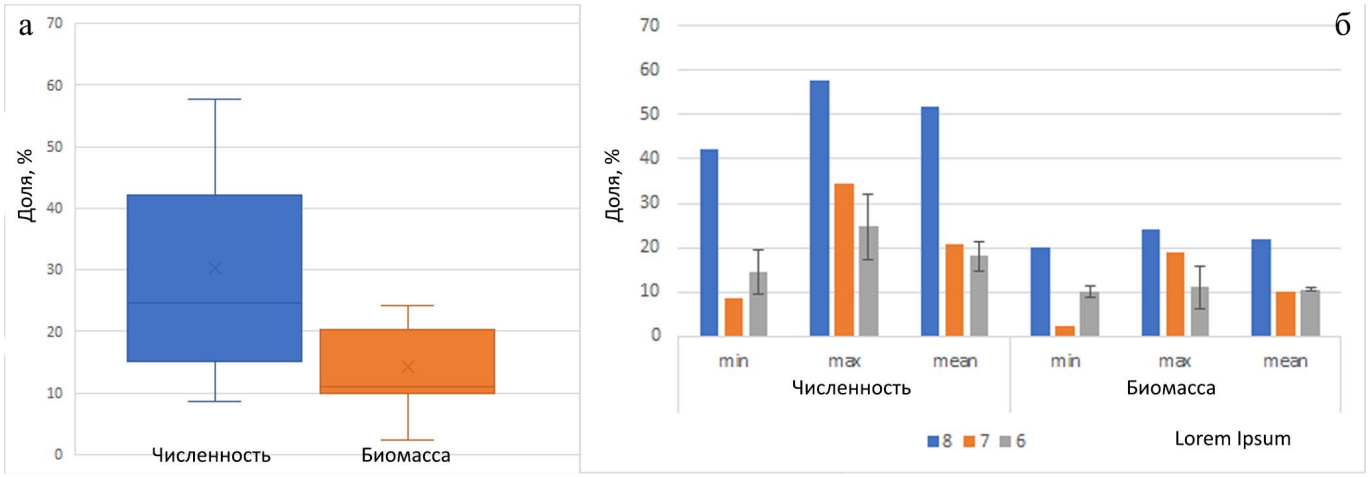


Рис.7. Максимальная, минимальная и средняя величины вклада группы мелкоклеточных центрических диатомей в численность и биомассу фитопланктона Телецкого озера в апреле 2023 г. в целом (а) и по станциям (б).

в фитопланктоне в подледный период находится в прямой зависимости от общей глубины на станции и толщины снега, а численность и биомасса фитопланктона – в обратной от глубины и прямой от толщины снегового покрова. Доли группы $P+S+S$ в численности и биомассе фитопланктона коррелируют отрицательно с температурой воды и положительно с толщиной снега и льда в разной степени (Таблица 5).

2024 год

Выявлено 53 таксона водорослей из шести отделов при наибольшем разнообразии диатомовых водорослей – 56.6%. Второе ранговое место по разнообразию принадлежало зеленым водорослям, среди которых отмечены вольвоксовые (представители родов *Chlamydomonas* Ehr. и *Scherffelia* Pasch.), а также хлорококковые, типичные планктеры (представители родов *Monoraphidium* Kom.-Legn. и *Tetrastrum* Chod.), и десмидиевые (представитель рода *Closterium* Nitzsch ex Ralfs). Разнообразно были представлены жгутиковые формы из криптофитовых родов *Komma* и *Cryptomonas*. В остальных отделах было выявлено по 1–4 таксона, т.е. зимний подледный фитопланктон был малоразнообразен по составу.

Наиболее разнообразный, но меньший по количеству выявлен состав фитопланктона в устье р. Камги (ст. 1), в литорали Камгинского залива на двух станциях был отмечен примерно одинаковый по составу и количеству фитопланктон (ст. 2 и 3), в то время как в пелагиали озера на выходе из залива (ст. 4) фитопланктон был и менее разнообразный и менее обильный при наибольшем вкладе диатомовых водорослей (Рис. 8а). В целом, диатомовые водоросли на разных участках акватории залива составляли 27.8–66.7% от общего состава водорослей планктона, зеленые – 6.9–22.2%. Выявлено, что на ст. 2 у поверхности больше таксонов, чем на глубине 10 м, но меньше, чем на 20 м. На ст. 3, напротив, у поверхности самое наименьшее число таксонов, а наибольшее – на глубине 10 м в то время, как, на 20 м эта величина снижается. Вполне возможно, что воды крупного притока озера р. Камги, поступая в залив, способствуют перемешиванию водной массы и определенных тенденций в распределении водорослей в толще воды не выявлено. В пелагиали водоросли более сосредоточены не у поверхности, а на глубине 10 м, что вполне согласуется с тем, что поверхность пелагиали больше подвержена ветро-волновому воздействию при отсутствии льда.

Численность фитопланктона в подледный период была от низких до средних значений для данного водоема, и изменялась в пределах 46.0–380.7 тыс.кл./л, также как и его биомасса – 76.0–344.0 мг/м^3 при средних 238.7 ± 36.2 тыс.кл./л и 195.0 ± 33.0 мг/м^3, соответственно (Рис. 8б, см. Таблица 2). Доля диатомовых водорослей в численности фитопланктона составила 35.4–78.2% при средней для всего объема данных величине 57.6 ± 5.1%, биомассе – 1.9–86.3% при средней 50,4 ± 10,9%. На отдельных станциях и горизонтах в марте значительным был вклад криптофитовых водорослей: доля в численности 7.6–42.8% при средней 22.7 ± 4.3% и доля в биомассе 2.6–25.9%

Таблица 5. Корреляционные коэффициенты Спирмена между показателями фитопланктона, доли мелкоклеточных центрических диатомовых водорослей и некоторых факторов среды в апреле 2023 г. ($p < 0.05$)

Показатели		Фитопланктон			Доля $P+S+S$ в	
		N	B	n	N	B
Температура		-0.29	0.31	0.22	**-0.67**	**-0.75**
Общая глубина		**-0.66**	**-0.97**	**0.94**	-0.28	-0.17
Толщина	снега	**0.97**	**0.67**	**0.74**	**0.98**	**0.95**
	льда	0.25	-0.34	-0.25	**0.65**	**0.73**

Примечание: N – численность фитопланктона, B – биомасса, n – число таксонов; жирным шрифтом выделены связи равные или выше 0.5

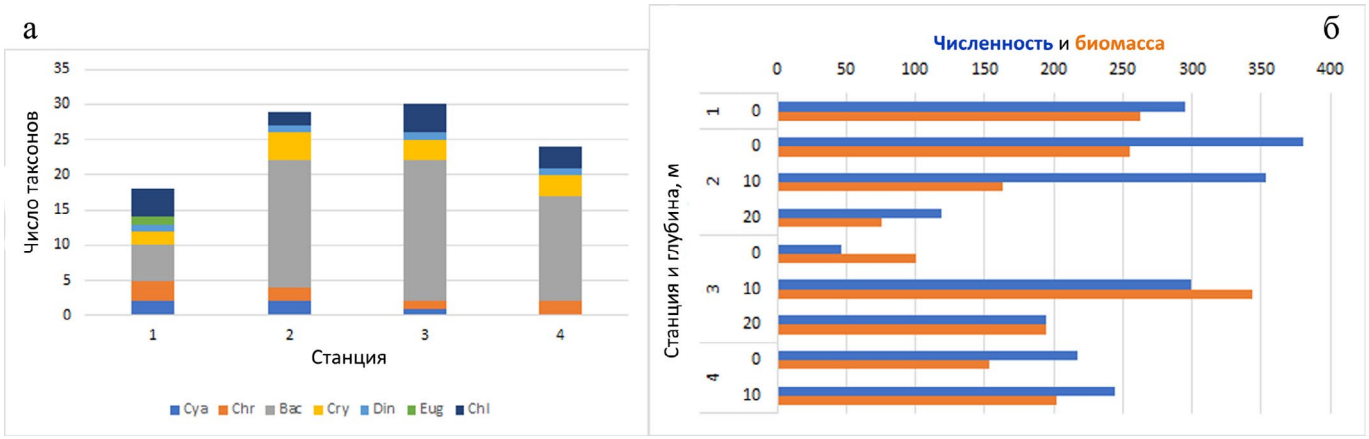


Рис.8. Соотношение отделов водорослей (а) и обилие (б) фитопланктона (численность, тыс.кл./л и биомасса, мг/м^3) в Телецком озере в марте 2024 г. Условные обозначения: Cya – Cyanobacteria, Chr – Chrysophyta, Bac – Bacillariophyta, Cry – Cryptophyta, Din – Dinophyta и Chl – Chlorophyta.

при средней величине 9.2 ± 2.4%. Из диатомовых доминировал по численности комплекс мелкоклеточных диатомей *P*+*S*+*S*, имеющий 100%-ную встречаемость и 55.6% частоту доминирования, в то время как у криптофитовой водоросли *K. caudata* при 88.9%-ной встречаемости частота доминирования составляла 33.3%.

В доминантном комплексе по биомассе у комплекса мелкоклеточных *P*+*S*+*S* при 11.1% встречаемости доминирования не выявлено, а *K. caudata* – при 22.2% встречаемости также в качестве доминантов не отмечен. Динофитовая водоросль *Glenodinium quadridens* (Stein) Schill. доминировала только в одной пробе – в р. Камге (частота встречаемости – 44.4%, частота доминирования – 11.1%), в пелагиали она в доминантном комплексе не отмечена. Средняя для станции численность фитопланктона уменьшается от 2 к 3 станции и увеличивается к 4, пелагиальной станции.

Вклад группы *P*+*S*+*S* составлял в численности от 21.9 до 67.1% при средней величине 35.0 ± 4.7%, в биомассе – 1.9–11.7% при средней величине 6.3 ± 1.0. При этом наибольший вклад группы *P*+*S*+*S* в численность фитопланктона был выявлен на ст. 1 в поверхностном слое, а биомассу – на ст. 2 на глубине 10 м. Анализ корреляционных связей между численностью, биомассой и количеством таксонов фитопланктона, а также долей группы *P*+*S*+*S* в общей численности и биомассе, с одной стороны, и температурой воды, общей глубиной на станциях и толщиной снега и льда – с другой (Таблица 6), показал, что для доли *P*+*S*+*S* в численности фитопланктона была выявлена очень высокая отрицательная зависимость от температуры воды, умеренная положительная – от толщины снега и льда. Для доли *P*+*S*+*S* в биомассе фитопланктона наблюдалась заметная положительная зависимость от толщины снега и умеренная положительная зависимость от толщины льда. Для фитопланктона в целом значимая (умеренная отрицательная) корреляционная зависимость отмечена только для числа таксонов, т.е. чем больше снега, тем меньше видов в фитопланктоне.

В дополнении был проанализирован вклад каждого из четырех видов, составляющих группу *P*+*S*+*S*, в фитопланктоне Камгинского залива в подледном слое. Выявлено, что *P. teletskoyensis* преобладает по количеству среди других видов. Ее относительная численность изменялась от 73.3 до 87.8% в группе при среднем значении 81.9 ± 1.4%, вторым по значимости является *S. chantaicus* – 6.8–17.3% и 13.1 ± 1.1%, соответственно. Остальные два вида хотя и встречаются в каждой пробе, но в незначительных количествах.

Эколого-географический анализ состава водорослей планктона в подледный период

Анализ таксономического состава и экологических характеристик водорослей показал, что в планктоне Телецкого озера в период ледостава преобладали обитатели дна и перифитона (33.6% от общего числа выявленных таксонов и 48.5% от числа таксонов с известной экологической характеристикой), космополиты по географической приуроченности (43.6 и 62.9), алкалифилы и индиф-

Таблица 6. Корреляционные коэффициенты Спирмена между показателями фитопланктона, доли мелкоклеточных центрических диатомовых водорослей и некоторых факторов среды в марте 2024 г. ($p < 0.05$)

Показатели		Фитопланктон			Доля *P*+*S*+*S* в	
		N	B	n	N	B
Температура		-0.13	-0.07	0.27	**-0.97**	-0.49
Общая глубина		-0.08	-0.15	**0.57**	**-0.52**	-0.18
Толщина	снега	0.29	-0.10	-0.32	0.38	**0.61**
	льда	0.13	0.00	0.19	0.33	0.31

Примечание: N – численность фитопланктона, B – биомасса, n – число таксонов; жирным шрифтом выделены связи равные или выше 0.5

ференты по отношению к pH среды (17.9 и 39.1, 19.3 и 42.2, соответственно) и индифференты по отношению к минерализации воды (48.6 и 71.6), а также бетамезосапробионты по отношению к содержанию органических соединений (25.7 и 48.7%) (Таблица 7).

4. Обсуждение

Влияние ледовой обстановки на доминирующий комплекс и количественные характеристики фитопланктона в Телецком озере

Телецкое озеро, расположенное в горах Алтая на юге Западной Сибири, относится к водоемам с ежегодно замерзающей только северной широтной частью и редким полным ледоставом (Селегей и Селегей, 1978). В последние десятилетия полный ледостав отличается отсутствием какой-либо регулярности. Ранее повторяемость полного ледостава отмечали каждые 8–13 лет. В 2006 г. озеро полностью покрылось льдом после более чем 15 лет его отсутствия. Далее полное замерзание наблюдали в 2010 и 2018 гг. Особенности термического и гидрологического режимов озера обусловлены его большой глубиной (323 м), господством почти постоянных горных ветров в его долине, коротким периодом внешнего водообмена (5.6 лет) (Селегей и Селегей, 1978; Selegei et al., 2001). Эти факторы приводят к непостоянному, позднему или непродолжительному ледоставу. Открытая вода в зимний период при сильных постоянно дующих ветрах в долине озера оказывает негативное влияние на развитие водорослей, развивающиеся в толще воды озера.

Отбор проб подледного фитопланктона в 1997, 2006, 2018, 2023 и 2024 гг. совпал с различной ледовой обстановкой на озере (Рис. 9).

В 1997 г. озеро встало всей широтной частью, т.е. с востока на запад от Камгинского залива (ст. 1–4) до истока р. Бии, включая и пелагиаль напротив пос. Яйлю (ст. 5–9). На ст. 5 лед был толщиной 10–12 см и практически без снега (см. Рис. 2). В 2006 и 2018 гг. наблюдали полный и продолжительный ледостав на всем озере, что бывает очень редко. Лед был толстый с мощным снежным покровом – более 30 см. Обычно установившийся тонкий лед разбивается ветрами, которые дуют в узкой озерной долине то с северо-запада, то с юго-востока. В 2023 г. ледостав в северной широтной части озера затронул Камгинский залив и участок от истока р. Бии до м. Карагаш, а в 2024 г. – немного дальше на восток до м. Ажи (перед центральной частью). В эти два года пелагиаль у пос. Яйлю (ст. 5) оставалась свободной ото льда. Подобная 2024 г. ледовая обстановка была отмечена в марте 2022 г., что представлено на Рис. 2в-д. Такое разное покрытие льдом озера способствовало формированию различий в составе подледного фитопланктона.

Таблица 7. Экологические характеристики водорослей подледного планктона Телецкого озера

Экология		**Географическое распространение**	
Группа	**Число таксонов**	**Группа**	**Число таксонов**
планктонные	38	аркто-альпийские	14
бентосные	**47**	бореальные	22
планкто-бентосные	11	космополитные	**61**
эпибиотнты	1		
число таксонов с известной характеристикой (% от общего числа таксонов)	97 (69.3)		97 (69.3)
Галобность		**pH-приуроченность**	
Группа	**Число таксонов**	**Группа**	**Число таксонов**
галофоб	10	ацидофил	5
галофил	15	алкалибионт	7
индифферент	**68**	алкалифил	**25**
мезогалоб	1	индифферент	**27**
олигогалоб	1		
число таксонов с известной характеристикой (% от общего числа таксонов)	95 (67.9)		64 (45.7)
Сапробность			
Группа	**Число таксонов**	**Группа**	**Число таксонов**
ксеносапробы (0-0.5)	7	бетамезосапробы (1.5-2.5)	**36**
олигосапробы (0.5-1.5)	20	альфамезосапробы (2.5-3.5)	11
число таксонов с известной характеристикой (% от общего числа таксонов)		74 (52.9)	

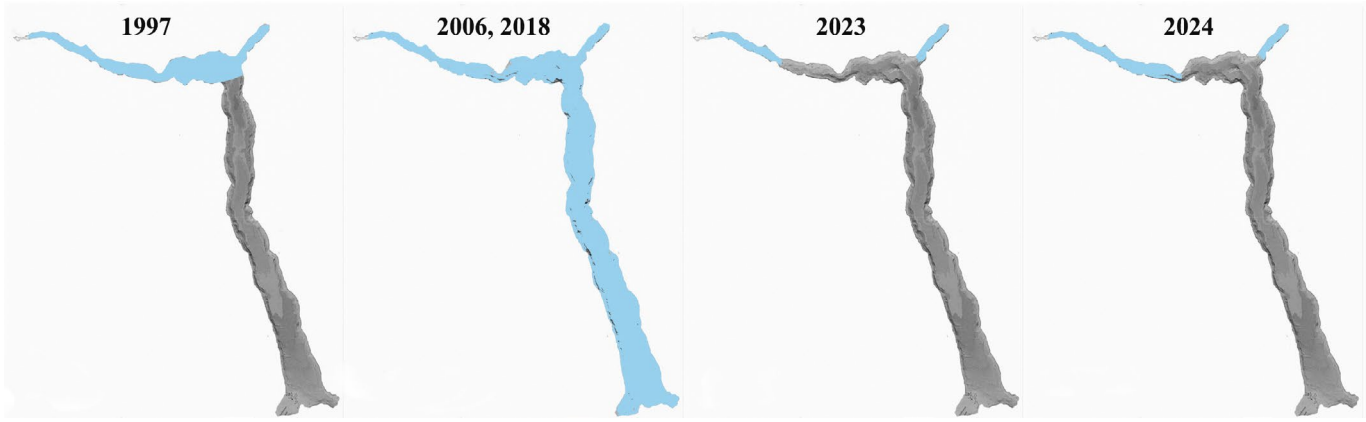


Рис.9. Ледовая обстановка на Телецком озере в периоды исследования подледного фитопланктона (голубой цвет – ледовый покров, серый – открытая вода).

Всего за период исследования в зимнем фитопланктоне Телецкого озера выявлено 140 таксонов с преобладанием диатомовых, зеленых водорослей и цианобактерий: Cyanobacteria – 16, Chrysophyta – 9, Bacillariophyta – 79, Cryptophyta – 9, Dinophyta – 5, Euglenophyta – 3 и Chlorophyta – 19. Цианобактерии всегда присутствуют в планктоне озера, особенно мелкоклеточные кокковые формы – за период исследования фитопланктона с 1989 по 1997 гг. цианобактерии составляли 10.6% от общего числа таксонов (Митрофанова, 2000). В зимнем планктоне доля цианобактерий оказалась практически в тех же пределах – 11.4%. По доле цианобактерий в общем составе фитопланктона озера выделяется фитопланктон 1997 г. – 21.1%, в то время как в другие годы исследования доля цианобактерий находилась в пределах 4.9-7.7% от общего состава (Рис. 10). Тонкий прозрачный лед с небольшим количеством снега на его поверхности обеспечили проникновение в толщу воды достаточного количества света и создали благоприятные условия для развития цианобактерий в 1997 г., в основном видов *Dolichospermum flos-aquae, D. circinale*, а также *Microcystis pulverea* и *Anathece clathrata*. Это хорошо подтверждается корреляционными связями для цианобактерий и толщины льда – высокая отрицательная корреляционная зависимость, т.е. при уменьшении мощности льда увеличивается доля цианобактерий в численности фитопланктона (см. Таблица 3). И для всего массива данных, представленных в настоящей публикации, также отмечена подобная отрицательная зависимость, но не высокая, а заметная (Таблица 8).

Если обобщить и проанализировать все значимые (более 0.5) линейные связи в исследованные годы, то 1997 г. выделяется только высокими отрицательными зависимостями доли цианобактерий в численности фитопланктона от толщины льда и снега, 2006 г. – заметной отрицательной зависимостью числа таксонов от общей глубины, а в 2023 и 2024 гг. спектр зависимостей намного шире, что, вероятно, связано с исследованиями на литоральных участках озера, на которых условия среды более разнообразны (влияние притоков). Графически это представлено на Рисунке 11.

Интенсивный и продолжительный период перемешивания водной толщи, короткий период стагнации, повышенная проточность водоема не позволяют этой группе водорослей достигать высоких значений обилия в озере в летний период, в то время как подо льдом, в условиях низких температур и отсутствия турбулентности, они могут значительно увеличивать свою численность. В то же время, при толстом слое льда и снега как в пелагиали (2006 г.), так и на более мелководных участках (2018, 2023–2024 гг.) в фитопланктоне наиболее значимым становится диатомово-криптофитовый компонент – группа $P+S+S$ и криптофитовая водоросль *Komma caudata*. Известно, что криптофитовые составляют типичный холодноводный комплекс видов, характерный для подледного и ранневесеннего планктона озер (Трифонова, 1990; Бондаренко

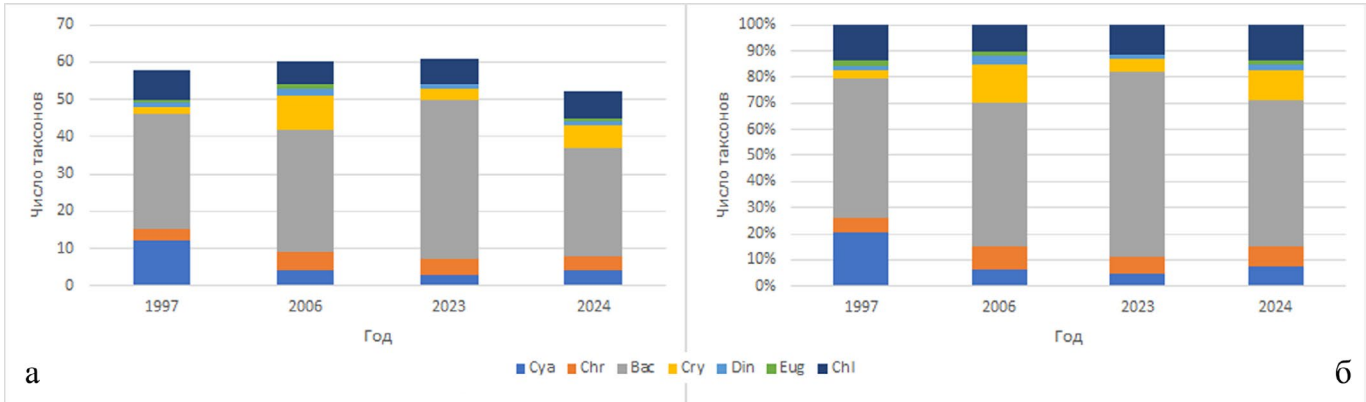


Рис.10. Абсолютное (а) и относительное (б) число таксонов водорослей в зимнем фитопланктоне Телецкого озера. Условные обозначения: Cya – Cyanobacteria, Chr – Chrysophyta, Bac – Bacillariophyta, Cry – Cryptophyta, Din – Dinophyta и Chl – Chlorophyta.

Таблица 8. Корреляционные коэффициенты Спирмена между показателями фитопланктона, доли цианобактерий и диатомовых водорослей и некоторых факторов среды в разные годы исследования зимнего фитопланкона В Телецком озере, поверхностный слой ($p < 0.05$)

Показатели		Фитопланктон		Доля в N	
		N	B	Cya	Bac
Толщина	снега	-0.38	0.22	-0.30	0.02
	льда	-0.44	0.22	**-0.62**	0.34

Примечание: N – численность фитопланктона, B – биомасса, Cya – цианобактерии, Bac – диатомовые водоросли; жирным шрифтом выделены связи равные или выше 0.5

и Щур, 2008). В оз. Байкал встречается несколько видов криптофитовых водорослей, среди которых *Cryptomonas gracilis* Skuja и *C. ovata* Ehr. обитают здесь круглогодично. В подледном планктоне в значительных количествах развиваются *C. reflexa* (Marsson) Skuja, *C. marssonii* Skuja и *Rhodomonas pusilla* (Bachm.) Javornicky. *K. caudata* – также, как и в Телецком озере, является постоянным компонентом планктона в Байкале. Весной и осенью этот вид становится одним из доминирующих, встречаясь во всей толще воды (Атлас и определитель..., 1995).

Отличительной особенностью флагеллят, относящихся к золотистым и криптофитовым водорослям, является их способность переходить на гетеротрофное питание при неблагоприятных по освещенности условиям. Это свойство вполне оправдано в зимний период, когда при установлении ледостава резко сокращается поступление солнечной радиации в водные слои. Найденные среди золотистых водорослей *Mallomonas elongata*, *M. acaroides*, *M. producta* нередко встречаются в озерах поздней осенью, зимой или весной, как, например, в мелководных озерах Катунских Белков (Матвиенко, 1954). А большинство выявленных криптофитовых водорослей (*Cryptomonas erosa*, *C. gracilis*, *C. marssonii*, *C. ovata*, *Rhodomonas pusilla* и *Komma caudata*), широко распространены в озерах и других водных объектах. Они также предпочитают холодное времена года или часто встречаются в высокогорных олиготрофных озерах (Киселев, 1954).

Сравнительный анализ разнообразия водорослей в подледном фитопланктоне Телецкого озера (Рис. 12) показал, что в каждый из исследованных годов в зимний период вегетирует сходное число таксонов и примерно одинаковое число является общими для смежных годов – 36-57%. Несколько сниженное число таксонов, выявленное в 2024 г., возможно, связано с обособленностью Камгинского залива, где были отобраны пробы. Высокое разнообразие водорослей планктона зимой в разные годы может свидетельствовать о значительном постоянстве состава данной экологической группы в озере в разные годы при различной ледовой обстановке.

Сравнение доминирующих комплексов в озерах различных климатических зон в зимний период

В зимний период в фитопланктоне различных климатических зон наряду с криптофитовыми и золотистыми флагеллятами, также развиваются и диатомовые водоросли (Шкундина, 1983), которые выделяются устойчивостью к динамическим условиям и могут развиваться даже в условиях

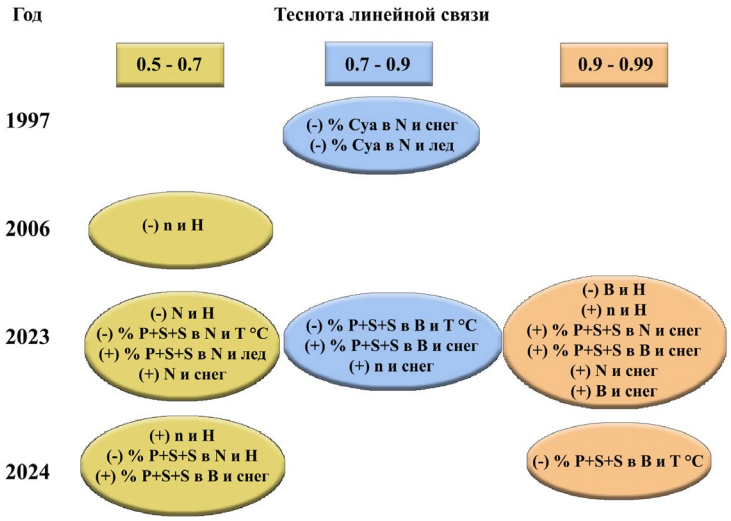


Рис.11. Корреляционные зависимости между показателями планктона и факторами среды в разные годы исследования.

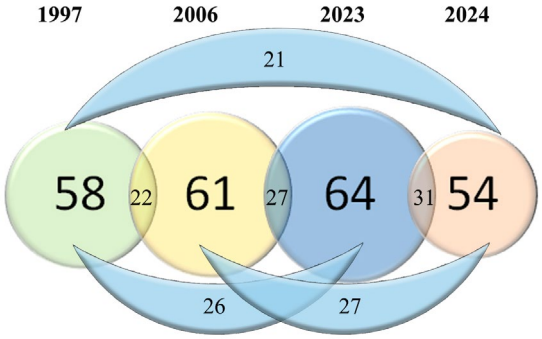


Рис.12. Разнообразие подледного фитопланктона в разные годы исследования (дополненная линейная диаграмма Венна): цифры крупным шрифтом – число таксонов в исследованные годы, мелким шрифтом – число общих таксонов в смежные годы.

отсутствия ледового покрова. Так, мелкоклеточные центрические диатомеи и криптофитовые преобладают в зимнем планктоне оз. Верхнее (США–Канада) (Munawar and Munawar, 1978), которое, также как и Телецкое, относится к холодноводным, глубоководным, имеет длительный период перемешивания и короткий интервал стратификации. Озеро Superior редко покрывается льдом полностью (примерно раз в 20 лет), обычно около 23%

его акватории покрыты льдом с февраля по апрель (Singer, 2026). Преобладание флагеллят отмечают и в мелководных водоемах с более высоким уровнем трофности, например, зимой подо льдом в мелководном гуминовом оз. Хрустальное болото (штат Висконсин, США), в планктоне также доминируют криптомонады, эвгленовые, а также цилиаты из простейших (Graham et al., 2004). В небольшом оз. Третьей Сестры (штат Мичиган, США) ледникового происхождения в подледный период в фитопланктоне доминируют диатомовые водоросли, причем пеннатные формы более обильны, чем центрические. Другой многочисленной группой являются золотистые водоросли (род *Dinobryon* Ehr.) и цианобактерии (род *Planktothrix* Anagnostidis & Komárek) (Judd et al., 2005). В мелководных водоемах в подледный период тоже обильны флагелляты, но кроме криптофитовых, которые характерны для Телецкого, в таких водоемах к ним добавляются динофитовые и эвгленовые жгутиконосцы, как, например, в эвтрофных и олиготрофных озерах Швеции (Danilov and Ekelund, 2001). Интересно, что криптофитовые присутствовали всегда и в озерах Швеции, но *Cryptomonas erosa* и *C. reflexa* были обильны в эвтрофных, в то время как *C. marssonii* только иногда появлялся в олиготрофных озерах. Для озера Констанц (Бодензее, Германия-Швейцария-Австрия) в зимний период отмечают слабое развитие водорослей. При низком прессинге зоопланктона и высоком содержании биогенов в это время года преимущественное развитие в фитопланктоне получают криптофитовые и мелкие центрические водоросли, как и в многочисленных разных по величине альпийских озерах (Sommer, 1986), также как и в Телецком озере. В целом, обилие фитопланктона в проанализированных выше олиготрофных озерах существенно ниже, чем в эвтрофных, даже в зимних условиях ввиду низкого количества биогенов. Таким образом, в разных климатических зонах зимой в фитопланктоне озер часто встречается комбинация видов из диатомей и фитофлагеллят, относящихся к золотистым и криптофитовым водорослям. Сходное распределение мы наблюдали в зимнем фитопланктоне Телецкого озера.

Для подледного фитопланктона Телецкого озера характерно большее развитие на мелководьях, где его обилие выше по сравнению с пелагиальными участками. Так, в пелагиали Яйлю (ст. 5) в 1997 г. среднее значение индекса разнообразия Шеннона по численности было 1.08 ± 0.13, биомассе – 1.59 ± 0.17, в 2006 г. в пелагиали – 1.83 ± 0.05 и 1.60 ± 0.14, литорали – 1.88 ± 0.13 и 2.00 ± 0.19 соответственно. И если в период открытой воды развитие фитопланктона в пелагиали лимитирует в основном гидродинамический фактор (ветро-волновое перемешивание), то в подледный – толщина льда и снега на нем. Так, в 1997 и 2006 гг. численность и биомасса фитопланктона в пелагиали Яйлю (ст. 5) ниже, чем в 2006 и 2023–2024 гг. на литоральных участках. Кроме того, на мелководных участках озера и подо льдом, как и в период открытой воды, отмечено преобладание по разнообразию бентосных и перифитонных форм, что может свидетельствовать о большом влиянии литорали в формировании планктонного звена в озере. Например, в апреле 2023 г. в фитопланктоне на участке ст. 6–8 вклад бентосных форм в общее разнообразие составил более 70%. В Байкале, напротив, байкальские эндемики, в основном истинно планктонные водоросли, в пелагиали обуславливают резкие межгодовые колебания численности фитопланктона. С учетом биомассы весеннего диатомового планктона (биомасса более 1000 мг/м^3) выделяют высокопродуктивные, среднепродуктивные (от 500 до 1000 мг/м^3) и низкопродуктивные (ниже 500 мг/м^3) годы. Максимальные значения биомассы в этот период могут достигать 5–7 г/м^3. В высокопродуктивные годы численность диатомовых водорослей может составлять 90% в общей численности фитопланктона, а биомасса – 95% (без пикопланктона) (Поповская и др., 2002; Popovskaya et al., 2008).

Одной из особенностей развития фитопланктона в Камгинском заливе Телецкого озера в марте 2024 г. можно отметить развитие на некоторых станциях, в основном у поверхности, динофитовой водоросли *Glenodinium quadridens*. Ее доля в численности фитопланктона была невысокая и изменялась в пределах 1.7–11.5% при средней величине 5.0 ± 1.0, в то время как доля в биомассе составила от 3.8 до 89.1% при средней 32.0 ± 11.0%. В другие периоды исследования подледного фитопланктона такого развития динофитовых мы не отмечали. «Цветение» динофитовых в зимний период характерно, например, для Байкала, когда эти водоросли развиваются в полостях льда и после таяния ледяного панциря выходят в планктон и обуславливают весеннее «цветение». Этим отличается *Gymnodinium baicalense* Antipova (Карнаухов и др., 2019).

В целом, развитие фитопланктона подо льдом Телецкого озера в разные периоды отбора было от предельно низкого до среднего уровня для данного водоема. Так, за период 1989–1997 гг. биомасса фитопланктона изменялась в пределах от 0.5 до 1207.5 мг/м^3 при средней за сезон около 150 мг/м^3 (Митрофанова, 2000). По величине средней биомассы подледного фитопланктона за четыре года исследования для всего массива данных (94.3 ± 21.3 мг/м^3) или средней биомассе в слое 0–10 м (175.3 ± 28.7 мг/м^3) по шкале трофности озер И.С. Трифоновой (1990) Телецкое озеро можно отнести к ультраолиготрофным водоемам (0–500 мг/м^3). В самом глубоком и древнем озере на Земле весенний максимум подо льдом может превышать летнее развитие фитопланктона и быть единственным в году (Яснитский и Скабичевский, 1957), что обусловлено развитием диатомовых и перидиниевых водорослей (Меншуткин и др., 1978; Поповская, 1978; Katz et al., 2015). Этому во многом способствует прозрачный, хотя и толстый (около 1 м) байкальский лед, а также пустоты (каверны) в нем (Заворуев и др., 1995; Карнаухов и др., 2019). В Телецком озере льда такой мощности обычно не бывает. Только особенно холодной зимой 1968-1969 гг. за 50 лет наблюдений была отмечена максимальная толщина

льда на стыке широтной и меридиональной частей озера (ст. 5) в 102-105 см. И продолжительность ледостава в Телецком озере гораздо меньше, чем в Байкале по времени – средняя продолжительность ледостава в широтной части составляет 69-155 дней в зависимости от участка, в меридиональной части – 36-45 дней (Селегей и Селегей, 1978). Все это не способствует массовому развитию водорослей подо льдом Телецкого озера.

По развитию флагеллят в зимнем фитопланктоне Телецкое озеро сходно с полярными и арктическими водоемами. При этом, свет, как отвечают некоторые авторы, не является лимитирующим фактором для пелагического сообщества водорослей в таких водных объектах. Более значимы здесь биогенные элементы, которых поступает недостаточно с водосборного бассейна (Bonilla et al., 2005). В Телецкое озеро, на водосборе которого много площадей, занятых гольцами (коэффициент загольцованности бассейна озера составляет 44.3% (Селегей и Селегей, 1978)), биогенов привносится также немного, особенно фосфора. Содержание фосфат-ионов в водах Телецкого озера незначительно и находится на уровне предела обнаружения (Зиновьев и др., 2012), что делает фосфор лимитирующим фактором для развития фитопланктона. А преобладающие в некоторые периода года в Телецком озере флагелляты, в том числе и подо льдом, способны к миксотрофии. Кроме того, при общем низком уровне развития фитопланктона в Телецком озере большее его развивается на мелководьях и бентосный элемент вносит значительный вклад в разнообразие фитопланктона. Это делает Телецкое озеро похожим на полярные и арктические водоемы, где бентос и перифитон особенно значимы, ведь большинство фототрофной биомассы в таких водных объектах сосредоточено не в планктоне, а бентосных группировках водорослей – около 98% общего пигментного запаса (Bonilla et al., 2005). По развитию в фитопланктоне флагеллят Телецкое озеро имеет черты сходства с антарктическими озерами, полностью и постоянно покрытых ледяным панцирем (до 4 м и более (Laybourn-Parry et al., 2001)). Для таких водоемов отмечают, что среди флагеллят очень часто в них преобладают криптофитовые водоросли, например, в озерах Фрикселл и Хоар (Сухая долина МакМурдо, Антарктика) это *Rhodomonas lacustris* Pascher & Ruttner (=*Chroomonas lacustris*), который составляет до 90% численности фототрофного наннофлагеллятного сообщества (Roberts and Laybourn-Parry, 1999) или более 87% фототрофной наннофлагеллятной биомассы. При незначительном увеличении концентраций биогенов (особенно азота) вместе с флагеллятами начинают развиваться зеленые хлорококковые водоросли, как, например, в оз. Транквил (западное побережье острова Сигни в Антарктике) доминировал *Ankistrodesmus falcatus* (Corda) Ralfs (Bulter et al., 2000). Как известно, для антарктическких озер характерны периоды полной темноты во время полярной ночи (147 дней) и постоянной инсоляции во время полярного дня (147 дней), в остальные периоды года эти озера сходны с озерами умеренной зоны в период зимнего ледостава, так как температура в близком ко льду слое близка к 0 и повышается с глубиной (Roberts and Laybourn-Parry, 1999). В период полярной ночи свет является лимитирующим фактором, в остальные периоды года – наличие биогенов определяет развитие и сосредоточение водорослей на разных глубинах (Bayliss et al., 1997). В Телецком озере биогенный фон низкий, поэтому в зимних условиях большее значение имеет «спокойствие» водного столба, т.е. ледовое покрытие и его толщина, которые это обеспечивают. В сезонном аспекте, по разнообразию зимний фитопланктон Телецкого озера, естественно, беднее летнего. Число одновременно вегетирующих видов в нем бывает достигает 25 таксонов при общем разнообразии в отдельные годы до 64 таксонов. Но и другие крупные и глубокие озера умеренной зоны отличаются незначительным разнообразием зимнего фитопланктона. Так, сходное количество видов и разновидностей выявлено в зимнем фитопланктоне южной Ладоги – 13–45 видов и разновидностей водорослей (Сухопарова, 1995). В подледном фитопланктоне Байкала развиваются в основном эндемики из диатомей и сопутствующие им криптофитовые и зеленые водоросли (Атлас и определитель..., 1995; Popovskaya et al., 2008).

Во многих больших озерах в период ледостава характерными представителями зимнего фитопланктона, доминирующими и по численности, и по биомассе, являются диатомовые рода *Aulacoseira*. Так, в южной Ладоге это – *A. islandica* (O.Müll.) Sim. и *A. islandica* ssp. *helvetica* (O.Müll.) Sim., *A. italica* (O.Müll.) Sim. В некоторых случаях в комплекс доминирующих по численности входят цианобактерии родов *Microcystis* и *Gomphosphaeria* Kütz., благодаря их способности к гетеротрофному питанию. Максимальная биомасса фитопланктона в Ладожском озере зарегистрирована на более глубоководных станциях – до 0.373 мг/л в Волховской губе и до 0.005 мг/л в бухте Петрокрепость. По вертикали водоросли планктона в основном сосредоточены в приповерхностном слое и у дна (глубина до 6 м) (Сухопарова, 1995). В Байкале биомасса диатомового планктона в высокоурожайные годы достигает весной в трофогенном слое воды 5–7 г/м^3, перидиней – до 100 г/м^3 и более. Общая биомасса фитопланктона весной в урожайные годы может достигать в озере в целом 1000 тыс. т в сырой массе (Вотинцев, 1986). В условиях обилия биогенных элементов эти виды даже при незначительной температуре воды развиваются в значительном количестве. Максимум их численности приходится на конец периода ранней весны – перед вскрытием озера (Меншуткин и др., 1978). В Телецком озере из колониальных диатомей была отмечена *Aulacoseira subarctica*, она встречается в основном глубже 30 м в пелагиали и ее вклад в биомассу фитопланктона может быть значительным, но в численность – нет, хотя в донных отложениях этот вид преобладает среди всех других диатомей ввиду его хорошей сохранности, возможно, из-за толстостенного панциря (Mitrofanova et al., 2016).

По вертикали в Телецком озере водоросли в основном приурочены к верхним 5–10 м. Слой воды, непосредственно прилегающий ко льду, вероятно, ввиду особенно низких температур (около 0 ˚С) не привлекателен для развития водорослей. Если флагелляты способны самостоятельно регулировать свое нахождение в столбе воды, то для неподвижных форм фитопланктона этому способствует конвективное перемешивание в озерах, покрытым льдом. Так, например, *Aulacoseira baicalensis* в Байкале благодаря этому явлению может сохраняться в верхних слоях от нескольких дней до более месяца (Kelley, 1997). Отмечено, что в слое воды, получающем 0.5–20% солнечной радиации, сосредоточено до 95% водорослей планктона. Исследования проводили на мелководном Бобровом пруду в городе Линкольн (Массачусетс, США) с декабря 1961 г. по февраль 1962 г. Наибольшее развитие фитопланктона отмечено было в близком к поверхности слою воды – 1–2 м. Наиболее разнообразны и обильны были флагелляты из криптофитовых, динофитовых, золотистых, эвгленофитовых. Встречались также диатомовые водоросли (Wright, 1964). Водоросли должны быть достаточно мобильны, чтобы занять лучшую позицию по отношению к свету. Так, в антарктических озерах зачастую максимум обилия фитопланктона фиксируется в более глубоких горизонтах при повышенной инсоляции – например, ниже 25 м в оз. Бобровое (Laybourn-Parry et al., 2001) или между 6 и 12 м в оз. Хоар (Roberts et al., 2004). Но в период полной темноты криптофитовые водоросли и другие флагелляты ввиду их активной способности к движению мигрируют в верхние ко льду слои, чтобы при первой же возможности аккумулировать солнечный свет (McKnight et al., 2000). В тоже время, при воздействии светового и температурного факторов водоросли выбирают менее освещенные, но более нагретые слои воды, так как при температуре, близкой к 0 ˚С, реакции с участием ферментов внутри клеток водорослей замедляются (Lizotte and Priscu, 1992). С другой стороны, отмечают случаи, когда максимум биомассы водорослей приурочен к слою с наибольшим количеством биогенов, т.е. важную роль играет хемоклин. Так, в озерах Фрикселл и Бонни (Антарктика) он расположен на глубине 9–10 м, а в оз. Ванда – ниже 50 м. (Seaburg et al., 1983).

Периодическое преобладание в зимнем фитопланктоне Телецкого озера (например, в 1997 г.) цианобактерий может свидетельствовать о многолетних сукцессиях цианобактерий и флагеллят, происходящих в планктонном сообществе. Для антарктических озер также отмечают преобладание цианобактерий в фитопланктоне. Например, в оз. Дружбы цианобактерии доминируют в фитопланктоне в течение всего года, в том числе и подо льдом, но наибольшего обилия достигают осенью (Laybourn-Parry and Bayliss, 1996). Возможно, вскрытие озера на короткий период летом создает подходящие условия для вегетирования цианобактерий. Кроме того, в летний период, когда некоторые озера Антарктики свободны ото льда на короткий период, флагелляты из криптофитовых, динофитовых и зеленых играют важную роль в фитопланктоне таких водоемов (Laybourn-Parry et al., 1991).

Кроме света и температуры одним из важных экологических факторов, влияющих на развитие фитопланктона в озерах, является выедание его зоопланктоном. Даже в зимних подледных условиях для некоторых групп водорослей (подходящих по размеру для поедания) существует опасность уменьшения их численности за счет выедания (Vasseur et al., 2005). У представителей зоопланктона нет избирания в пище – они захватывают или фильтруют те водоросли, которые могут по размерам войти в их глотку. В Телецком озере при исследовании содержимого желудков зоопланктеров обнаружены именно подходящие им по размерам водоросли, которые в момент отбора вегетировали в озере (Митрофанова, 2003). Обилие зоопланктона в Телецком озере невысокое (Зуйкова, 1998). Скорее всего, зоопланктон в данном водоеме не является фактором, существенно влияющим на численность фитопланктона в подледный период.

Индикационная значимость подледного фитопланктона

Анализ эколого-географических характеристик выявленных в подледном фитопланктоне видов показал, что в нем преобладают обитатели дна и перифитона (33.6% от общего числа выявленных таксонов), космополиты по географической приуроченности (43.6), алкалифилы и индифференты по отношению к pH среды (17.9 и 19.3) и индифференты по отношению к минерализации воды (48.6), а также бетамезосапробионты по отношению к содержанию органических соединений (25.7%), что может свидетельствовать о типичности состава фитопланктона Телецкого озера в подледный период. Большая доля истинно планктонных обитателей (27.1%), а также водорослей, которые часть своего жизненного цикла проводят в бентосе, а затем планктоне (7.9%) может свидетельствовать о значительной пелагиальной части в водоеме. В неспокойной по ветро-волновым условиям пелагиали преимущественное развитие получают водоросли наиболее устойчивые к таким динамическим условиям, в большей степени диатомеи, а также флагелляты, в число которых входят жгутиковые формы из золотистых и криптофитовых водорослей.

Индекс видового разнообразия Шеннона, показывающий степень доминантности, определяемый по численности, не превышал 2.16, по биомассе – 2.43, т.е. находится в середине диапазона, отмеченного для Телецкого озера в результате многолетних исследований его фитопланктона – 0.35–3.01 и 0.23–3.20, соответственно (Митрофанова, 2000). Это может свидетельствовать о сформированном планктонном сообществе в условиях даже зимнего минимума. Чем ниже значения индекса, тем меньшее число видов входит в число доминантов. Высокие индексы разнообразия характерны, как правило, для больших по площади озер, независимо от степени их трофии, потому что с возрастанием площади водоема увеличивается разноо-

бразие экологических ниш. Кроме того, величина индекса изменяется по сезонам. Например, самый высокий индекс разнообразия в Телецком озере был отмечен в конце лета-начале осени 1989 г. за счет полидоминантности ценоза, что характерно и для других менее трофных озер (Лаврентьева, 1986).

Значения индекса сапробности, свидетельствующего об органическом загрязнении воды озера, не превышали 1.85. По многолетним данным индекс сапробности изменялся в пределах 0.20–2.33 при средней многолетней за период вегетации величине для озера 1.57 и соответствовал изменениям от ксеносапробной зоны до bb-мезосапробной (Митрофанова, 2000). В зимний период развитие в планктоне холодолюбивых видов водорослей, в большинстве своем индикаторов чистых вод, свидетельствует о низком органическом загрязнении озера. По классификации качества воды водоемов и водотоков вода Телецкого озера относится к классам очень чистые (менее 1.00), чистые (1.00–1.50) и лишь в отдельных случаях умеренно загрязненные воды (1.51–2.50), что связано скорее не с непосредственным антропогенным загрязнением озера, а с некоторым снижением процессов самоочищения в зимний период.

5. Заключение

Исследование подледного фитопланктона в Телецком озере в разные годы при различной ледовой обстановке позволило выявить следующие особенности в его развитии, с одной стороны, при экстремальных (по температуре и освещенности), с другой – комфортных (по ветро-волновой нагрузке) условиях:

- Общее разнообразие фитопланктона снижается по сравнению с периодом открытой воды, особенно с летними месяцами в период максимального прогрева, но фитопланктон достаточно разнообразный (присутствуют водоросли из 6-8 отделов, до 25 таксонов в пробе). В пелагиали разнообразие и обилие фитопланктона ниже, чем на литоральных участках;
- Преимущественное развитие получают диатомовые водоросли и флагелляты из криптофитовых и золотистых водорослей. Диатомово-криптофитовый планктон состоит из группы мелкоклеточных центрических диатомей $P+S+S$ (*Pantocsekiella teletskoyensis*, *Stephanodiscus minutulus*, *S. binatus* и *Stephanocostis chantaicus*) и криптофитовой водоросли *Komma caudata*, которые преобладают по численности при устойчивом и продолжительном ледоставе. Преобладание диатомовых и криптофитовых водорослей характерно для крупных и глубоких озер умеренной зоны и полярных арктических и антарктических водоемов с кратковременным периодом открытой воды или постоянно находящихся под ледяным панцирем;
- При устойчивом ледоставе, но с тонким льдом и незначительным слоем снега в подледном фитопланктоне Телецкого озера отмечено развитие цианобактерий, в основном в приповерхностных горизонтах. Выявлена высокая отрицательная корреляционная зависимость доли цианобактерий в численности фитопланктона с толщиной льда;
- На литоральных участках донные формы и обитатели перифитона в основном из диатомовых водорослей вносят существенный вклад в разнообразие и обилие зимнего подледного фитопланктона, особенно в его биомассу. Доля донного компонента в фитопланктоне озера значительна как зимой подо льдом, так и в другие периоды года в связи с особенностями морфометрического строения водоема (узкая горная долина), большого по площади и высоко расположенного над уровнем моря водосборного бассейна, значительное число постоянных и временных притоков. Ускоренный водообмен в озере и, как следствие, нестабильность водных масс обеспечивают большее вовлечение водорослей бентоса и перифитона в сообщество планктона;
- Высокие значения индекса разнообразия Шеннона-Уивера (до 2.16 по численности и до 2.43 по биомассе), находящиеся в середине диапазона, отмеченного для Телецкого озера в результате многолетних исследований его фитопланктона (0.35–3.01 и 0.23–3.20, соответственно), могут свидетельствовать о сформированности подледного сообщества водорослей.

Благодарности

Работы выполнены по госзаданию № FUFZ-2026-0005. Автор признателен сотрудникам лабораторий водной экологии и гидрологии и информатики ИВЭП СО РАН В.В. Кириллову, М.И. Ковешникову, А.В. Дьяченко и И.А. Суторихину за организацию и проведение отбора зимних проб фитопланктона на Телецком озере в разные годы, а также дайверам Алтайского государственного биосферного заповедника Р. Воробьеву и Т. Клименко.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

Атлас и определитель пелагобионтов Байкала (с краткими очерками по их экологии). 1995. Тимошкин О.А., Мазепова Г.Ф., Мельник Н.Г. и др. Новосибирск: Наука. Сиб. издат. фирма РАН.

Баринова С.С., Белоус Е.П., Царенко П.М. 2019. Альгоиндикация водных объектов Украины: методы и перспективы. Хайфа, Киев: Издательство Университета Хайфы.

Башенхаева М.В., Захарова Ю.Р. 2017. Культивируемые бактерии из подледных альго-бактериальных сообществ озера Байкал. Acta Biologica Sibirica 3(3): 76–85.

Бондаренко Н.А., Оболкина Л.А., Тимошкин О.А. 2004. Лёд – хранитель жизни. Наука из первых рук 1 (2): 77–82.

Бондаренко Н.А., Щур Л.А. 2008. Cryptophyta водоемов и водотоков Восточной Сибири (Россия). Альгология 18(4): 408–422.

Верхозина В.А., Куснер Ю.С., Павлова Т.В. и др. 2000. Проявление климатической изменчивости в периодичности урожайности планктона озера Байкала. Доклады Академии Наук 374(2): 252–254.

Водоросли. Справочник. 1989. В: Вассер С.П., Кондратьева Н.В., Масюк Н.П. и др. (ред.). Киев: Наук. Думка.

Вотинцев К.К. 1986. Формирование качества воды озера Байкал. Гидробиол. журн. 22(4): 3–9.

ГОСТ 17.1.3.07-82. 1982. Гидросфера. Правила контроля качества воды водоемов и водотоков. М.: Изд-во стандартов.

Диатомовые водоросли СССР (ископаемые и современные). 1992. В: Глезер З.И., Макарова И.В., Моисеева А.И. и др. (ред.). Т. II, вып. 2. СПб.: Наука.

Заворуев В.В., Левин Л.А., Гранин Н.Г. 1995. Распределение подледного и ледового фитопланктона озера Байкал. Доклады РАН 344(5): 705–708.

Зиновьев А.Т., Митрофанова Е.Ю., Третьякова Е.И. и др. 2012. Комплексные исследования Телецкого озера: термический режим, гидрохимические и гидробиологические характеристики. В: Водные и экологические проблемы Сибири и Центральной Азии: Труды Всероссийской научной конференции (20-24 августа 2012 г., Барнаул) в 3 т., Барнаул: Пять плюс, 1, С. 42–47.

Зуйкова Е.Н. 1998. Современное состояние зоопланктонного сообщества Телецкого озера. Автореф. дис... канд. биол. наук. Красноярск: КГУ.

Карнаухов Д., Заусаева Н., Ермолаева Я. и др. 2019. Особенности «вспышек» численности *Gymnodinium baicalense* и *Gymnodinium coeruleum* (Dinophyta) в оз. Байкал. Acta Biologica Sibirica 5(4): 109–113. DOI: 10.14258/abs.v5.i4.7143

Киселев И.А. 1954. Пирофитовые водоросли. М.: Советская наука: 212. (Определитель пресноводных водорослей СССР; вып. 6).

Ксендзенко Л.С., Бойко Л.А., Шишкин А.В. 2025. Элементы теории корреляции: учебное пособие для вузов. Политехнический институт ДВФУ. Владивосток: Дальневост. Федерал. Ун-т. 1 CD. Текст: электронный.

Лаврентьева Г.М. 1986. Фитопланктон малых удобряемых озер. М.: Агропромиздат.

Лепнева С.Г. 1937. Термика, прозрачность, цвет и химизм воды Телецкого озера. Исследование озер СССР 9: 3–105.

Лепнева С.Г. 1950. Жизнь в озерах. Жизнь пресных вод СССР. М.-Л.: Изд-во АН СССР 3, С. 257–552.

Матвиенко А.М. 1954. Золотистые водоросли. М.: Советская наука: 187. – (Определитель пресноводных водорослей СССР; вып. 3).

Меншуткин В.В., Кожова О.М., Ащепкова Л.Я. 1978. Функциональная модель экосистемы оз. Байкал. Гидробиологический журнал XIV(3): 3–10.

Митрофанова Е.Ю. 2000. Фитопланктон Телецкого озера (Горный Алтай, Россия): Автореф. дис... канд. биол. наук. М.: МГУ.

Митрофанова Е.Ю. 2003. Предварительные сведения о взаимоотношении фито- и зоопланктона в Телецком озере (Горный Алтай, Россия). В: Трофические связи в водных сообществах и экосистемах: Мат. междунар. конф. Борок: Изд-во ИБВВ РАН, С. 90–91.

Митрофанова Е.Ю., Кириллов В.В., Котовщиков А.В. 2006. Подледный фитопланктон глубокого олиготрофного озера. Ползуновский вестник 2–1: 327–333.

Митрофанова Е.Ю., Ковешников М.И., Крылова Е.Н. 2024. Состав и обилие фитопланктона и зообентоса Северо-западного мелководья Телецкого озера в период ледостава. Полевые исследования в Алтайском биосферном заповеднике. 6. Горно-Алтайск: ФГБУ «Алтайский государственный заповедник», С. 158–167.

Митрофанова Е.Ю., Ковешников М.И., Крылова Е.Н. 2025. Гидробиоценозы подо льдом крупного залива Телецкого озера (Алтай, Россия). Полевые исследования в Алтайском биосферном заповеднике. 7. Горно-Алтайск: ФГБУ «Алтайский государственный заповедник», С. 113–123.

Оболкина Л.А., Бондаренко Н.А., Дорощенко Л.Ф. и др. 2000. О находке криофильного сообщества в озере Байкал. Доклады Академии Наук 371(6): 815–817.

Поповская Г.И. 1978. Фитопланктон. В: Проблемы Байкала. Новосибирск: Наука, С. 158–169.

Поповская Г.И., Генкал С.И., Лихошвай Е.В. 2002. Диатомовые водоросли планктона озера Байкал: Атлас - определитель. Новосибирск: Наука.

Селегей В.В., Селегей Т.С. 1978. Телецкое озеро. Л.: Гидрометеоиздат.

Сухопарова Е.Ю. 1995. Сравнительная характеристика зимнего фитопланктона Волховской губы и бухты Петрокрепость Ладожского озера. Сборник научных трудов ГОСНИИОРХа 314: 135–145.

Трифонова И.С. 1990. Экология и сукцессия озерного фитопланктона. Л.: Наука.

Унифицированные методы исследования качества вод: Часть 3. 1977. Методы биологического анализа вод. Приложение 2. Атлас сапробных организмов. Москва.

Унифицированные методы исследования качества вод: Часть 3. 1983. Методы биологического анализа вод. Москва.

Шкундина Ф.Б. 1983. Сезонная динамика фитопланктона в некоторых озерах мира. Гидробиологический журнал XIX(6): 3–8.

Яснитский В.Н., Скабичевский А.П. 1957. Фитопланктон Байкала. Труды Байкальской лимнологической станции XV: 212–261.

Bashenkhaeva M.V., Zakharova Y.R., Galachyants Y.P. et al. 2025. High abundance and diversity of flagellates under ice cover in Lake Baikal revealed by microscopy and metabarcoding. Journal of Great Lakes Research 51(3): 102545. DOI: 10.1016/j.jglr.2025.102545

Bayliss P., Ellis-Evans J.C., Laybourn-Parry J. 1997. Temporal patterns of primary production in a large ultra-oligotrophic Antarctic freshwater lake. Polar Biology 18: 363–370.

Bonilla S., Villeneuve V., Vincent W.F. 2005. Benthic and planktonic algal communities in a high arctic lake: pigment structure and constricting responses to nutrient enrichment. Journal of Phycology 41: 1120–1130.

Bulter H.G., Edworthy M.G., Ellis-Evans J.C. 2000. Temporal plankton dynamics in an oligotrophic maritime Antarctic Lake. Freshwater Biology 43: 215–230.

Danilov R.A., Ekelund N.G.A. 2001. Phytoplankton communities at different depths in two eutrophic and two oligotrophic temperate lakes at higher latitude during the period of ice cover. Acta Protozoologica 40: 197–201.

Graham J.M., Kent A.D., Lauster G.H. et al. 2004. Seasonal dynamics of phytoplankton and planktonic protozoan communities in a Northern temperate humic lake: diversity in a dinoflagellate dominated system. Microbial Ecology 48: 528–540.

Guiry M.D. 2024. How many species of algae are there? A reprise. Four kingdoms, 14 phyla, 63 classes and still growing. Journal of Phycology 60: 214–228.

Guiry M.D., Guiry G.M. 2026. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland,

Galway. URL: https://www.algaebase.org (дата обращения: 30 июня 2026).

Judd K.E., Adams H.E., Bosch N.S. et al. 2005. A case history: effects of mixing regime on nutrient dynamics and community structure in Third Sister Lake, Michigan during late winter and early spring 2003. Lake and Reservoir Management 21(3): 316–329.

Hampton S.E., Galloway A.W.E., Powers S.M. et al. 2017. Ecology under lake ice. Ecology Letters 20: 98–111.

Katz S.L., Izmest'eva L.R., Hampton S.E. et al. 2015. The "Melosira years" of Lake Baikal: winter environmental conditions at ice onset predict under-ice algal blooms in spring. Limnology and Oceanography 60: 1950–1964.

Kelley D. 1997. Convection in ice-covered lakes: effects on algal suspension. Journal of Plankton Research 19: 1859–1880.

Kirillin G., Leppäranta M., Terzhevik A. et al. 2012. Physics of seasonally ice-covered lakes: a review. Aquatic Sciences 74: 659–682.

Laybourn-Parry J., Marchant H.J., Brown P. 1991. The plankton of a large oligotrophic freshwater Antarctic Lake. Journal of Plankton Research 13(6): 1137–1149.

Laybourn-Parry J., Bayliss P. 1996. Seasonal dynamics of the plankton community in Lake Druzhby, Princess Elizabeth Land, Eastern Antarctica. Freshwater Biology 35: 57–67.

Laybourn-Parry J., Quayle W.C., Henshaw T. et al. 2001. Life on the edge: the plankton and chemistry of Beaver Lake, ultra-oligotrophic epishelf lake, Antarctica. Freshwater Biology 46: 1205–1217.

Lizotte M.P., Priscu J.C. 1992. Photosynthesis-irradiance relationships in phytoplankton from the physically sTable water column of a perennially ice-covered lake (Lake Bonney, Antarctica). Journal of Phycology 28: 179–185.

McKnight D.M., Howes B.L., Taylor C.D. et al. 2000. Phytoplankton dynamics in a stably stratified Antarctic Lake during winter darkness. Journal of Phycology 36: 852–861.

Mitrofanova E.Yu., Sutchenkova O.S., Lovtskaya O.V. 2016. Lake Teletskoye (Altai, Russia): reconstruction of the environment and prediction for its changes according to the composition and quantity of diatoms in the bottom sediment. Russian Geology and Geophysics 57: 1243–1255.

Munawar M., Munawar I. 1978. Phytoplankton Lake Superior 1973. Journal of Great Lakes Research 4: 415–442.

Obertegger U., Flaim G., Corradini S. et al. 2022. Multi-annual comparisons of summer and under-ice phytoplankton communities of a mountain lake. Hydrobiologia 849: 4613–4635. DOI: 10.1007/s10750-022-04952-3

Popovskaya G., Bondarenko N., Usol'tseva M. 2008. Spring diatom plankton of Lake Baikal. In: Central European Diatom Meeting (CEDIATOM2) Trentino Nature & Science Museum, Trento, Italy, 12–15 June 2008. Abstract Book (M. Cantonati, A. Scalfi & E. Bertuzzi Eds.), pp. 50.

Roberts E.C., Laybourn-Parry J. 1999. Mixotrophic cryptophytes and their predators in the Dry Valley lakes of Antarctica. Freshwater Biology 43: 737–746.

Roberts E.C., Priscu J.C., Laybourn-Parry J. 2004. Microplankton dynamics in a perennially ice-covered Antarctic lake-Lake Hoare. Freshwater Biology 49: 853–869.

Salmaso N., Decet F., Cordella P. 1999. Understanding deep oligotrophic subalpine lakes for efficient management. Hydrobiologia. 395/396: 253–263.

Seaburg K.G., Kaspar M., Parker B.C. 1983.Photosynthetic quantum efficiencies of phytoplankton from perennialy ice covered antarctic lakes. Journal of Phycology 19: 446–452.

Selegei V., Dehandschutter B., Klerks J. et al. 2001. Physical and geological environment of Lake Teletskoye. Annales - Sciences Geologiques 105.

Singer J.A. 2026. Does Lake Superior Freeze? How Ice Forms on the Great Lakes. URL: https://daytripper28.com/does-lake-superior-freeze (дата обращения: 20.07.2026)

Sommer U. 1986. The periodicity of phytoplankton in Lake Constance (Bodensee) in comparison to other deep lakes of central Europe. Hydrobiologia 138: 1–7.

Tranvik L.J., Downing J.A., Cotner J.B. et al. 2009. Lakes and reservoirs as regulators of carbon cycling and climate. Limnology and Oceanography 54(6, part 2): 2298–2314.

Vasseur D.A., Gaedke U., McCann K.S. 2005. A seasonal alternation of coherent and compensatory dynamics occurs in phytoplankton. Oikos 110: 507–514.

Watson S.B., Satchwill T., Dixon E. et al. 2001. Under-ice and source-water odour in a nutrient-poor reservoir: biological, ecological and applied perspectives. Freshwater Biology 46: 1553–1567.

Wright R.T. 1964. Dynamics of a phytoplankton community in ice-covered lake. Limnology and Oceanography. IX (2): 163–178.

Wüest A., Pasche N., Ibelings B.W. et al. 2019. Life under ice in Lake Onego (Russia) - an interdisciplinary winter limnology study. Inland Water Biology 9(2): 25–129. DOI: 10.1080/20442041.2019.1634450

Original Article

Diatom diversity and community structure of the littoral zone of Lake Ugii, Mongolia

Bukhchuluun Ts.[1]*, Barkhas L.[2], Erdenesukh E.[2]

[1] *Natural plant genbank, Botanic Garden and Research Institute of Mongolian Academy of Sciences, Bayanzurkh district, Ulaanbaatar, 13330 Mongolia*
[2] *Water recovery LLC, Sukhbaatar district, Ulaanbaatar, Mongolia*

ABSTRACT. Lake Ugii, one of the largest freshwater lakes in central Mongolia, has experienced increasing anthropogenic pressure and environmental change over recent decades. To evaluate the current ecological condition of the lake shoreline, diatom assemblages were investigated at multiple sampling sites around the lake and associated habitats. A total of 86 diatom taxa were identified in 2024, compared with 110 taxa reported in 2009, indicating a decline in species richness over the past fifteen years. Elevated phosphorus concentration indicators were recorded along the northern and northeastern shoreline, suggesting the influence of organic inputs from surrounding riparian areas. Additionally, there was low substrate stability at sites along the Hooloy River, Hoid Mergen Shanaa, and Saidiin Hoshuu. Multivariate analyses revealed significant spatial variation in diatom community composition among sampling sites (PERMANOVA; $R^2 = 0.554$; $p = 0.001$), while differences in within-site dispersion were not significant (PERMDISP; $p = 0.087$). Indicator Species Analysis identified five significant indicator taxa, including *Diatoma vulgaris* Bory, *Nitzschia palea* (Kützing) W.Smith, *Encyonema elginense* (Krammer) D.G.Mann, *Epithemia sorex* Kützing, and *Diatoma tenuis* C.Agardh. Although measured physicochemical variables (conductivity, temperature, total dissolved solids, salinity, and pH) did not show significant relationships with community composition, spatial differences among assemblages suggest the influence of local shoreline conditions and ongoing land-use changes within the watershed. Comparison with previous surveys indicates a significant decline in diatom diversity and a marked shift in shoreline community composition in Lake Ugii. These findings provide important baseline information for ecosystem monitoring, conservation planning, and sustainable management of the lake and its watershed.

Keywords: diatom, diversity, changes, Lake Ugii, Mongolia

For citation: Bukhchuluun Ts., Barkhas L., Erdenesukh E. Diatom diversity and community structure of the littoral zone of Lake Ugii, Mongolia // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - P. 621-631. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-621

1. Introduction

Lake Ugii is situated in the northern part of the Khangai Mountains, covering an area of approximately 12 km^2 and reaching a maximum depth of 17 m. The Hogshin Orhon River flows into Lake Ugii, while the Hooloy River traverses the montane steppes before continuing northwest to join the Orhon River downstream of the lake (Wang et al., 2005).

The Ugii Lake basin is experiencing increasing anthropogenic pressure (Nomindari et al., 2024). Human impact assessments indicate substantial increases in road density, population concentration, land-use modification, and overall human influence between 2000 and 2020 (Fig. 1). Due to intensive livestock grazing, phosphorus (PO_4^{3-}) concentrations in the lake have increased (Amgalan et al., 2020a), while evaporation exceeds annual precipitation (Amgalan et al., 2020b). Human activities, including urbanization, mining, industrialization, livestock grazing, and forest exploitation, together with climate change, are affecting biodiversity and contributing to changes in species composition (Dagvadorj et al., 2014). These landscape-scale transformations may alter habitat heterogeneity and environmental conditions within shoreline ecosystems, potentially affecting the structure and distribution of aquatic communities.

*Corresponding author. E-mail address: bukhchuluunts@mas.ac.mn (Ts. Bukhchuluun)

Received: June 15, 2026;
Accepted after revised: August 21, 2026;
Available online: August 28, 2026

© Author(s) 2026. This work is distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

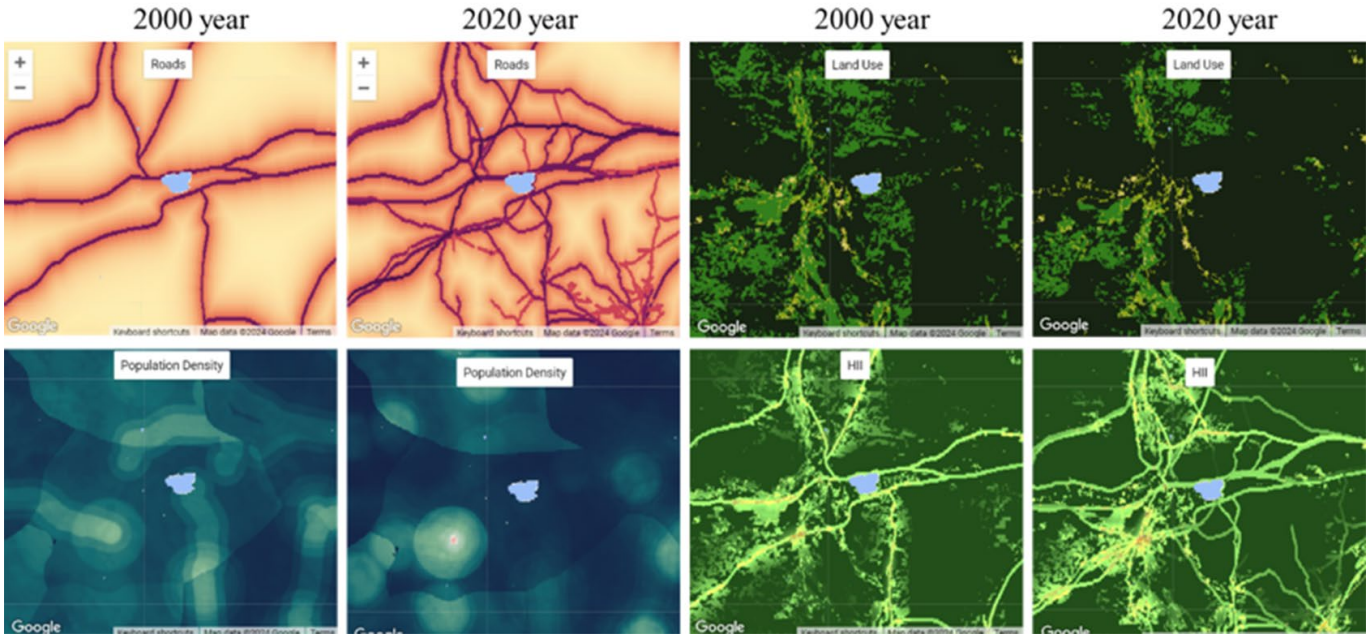


Fig.1. Changes in landscape characteristics within the Ugii Lake watershed between 2000 and 2020. Maps illustrate variations in road density, land-use patterns, population density, and human influence, indicating increasing anthropogenic pressure in the lake watershed over the past two decades.

Long-term climatic records derived from the Climate Research Unit (CRU) dataset indicate considerable interannual variability in air temperature within the Ugii Lake region during the last century (New et al., 2000; Fig. 2).

Additionally, temporal changes in lake extent indicate substantial fluctuations in water level and surface area during recent decades (https://earth.google.com/web/@47.77366175,102.74352177,1333.93828722a,15916.59223393d,35y,0h,0t,0r/data=ChY-6EAgBEQAAAAAAAABAGMEPIABCAggBSg0IARAA, Fig. 3).

However, the consequences of these environmental changes for aquatic biodiversity remain insufficiently investigated. The species composition and abundance of aquatic organisms are important indicators of water quality and ecosystem health (Moe et al., 2023; Prommi, 2023; Zakharenko et al., 2022). As human settlement and land-use intensity increase around freshwater resources, the condition of aquatic ecosystems and their ecosystem services deteriorates worldwide (Deeksha and Rama, 2023; Zou and Mao, 2022; Santos et al., 2023).

Diatoms are widely used in water-quality assessment because they occur in nearly all aquatic habitats, comprise numerous species, are readily identifiable, respond rapidly to environmental change, and serve as reliable indicators of ecological conditions (Chen et al., 2022; Pan et al., 2004). Water quality and land use are closely linked and often exhibit basin-specific relationships (Baker, 2003). Therefore, diatom assemblages are considered among the most sensitive biological

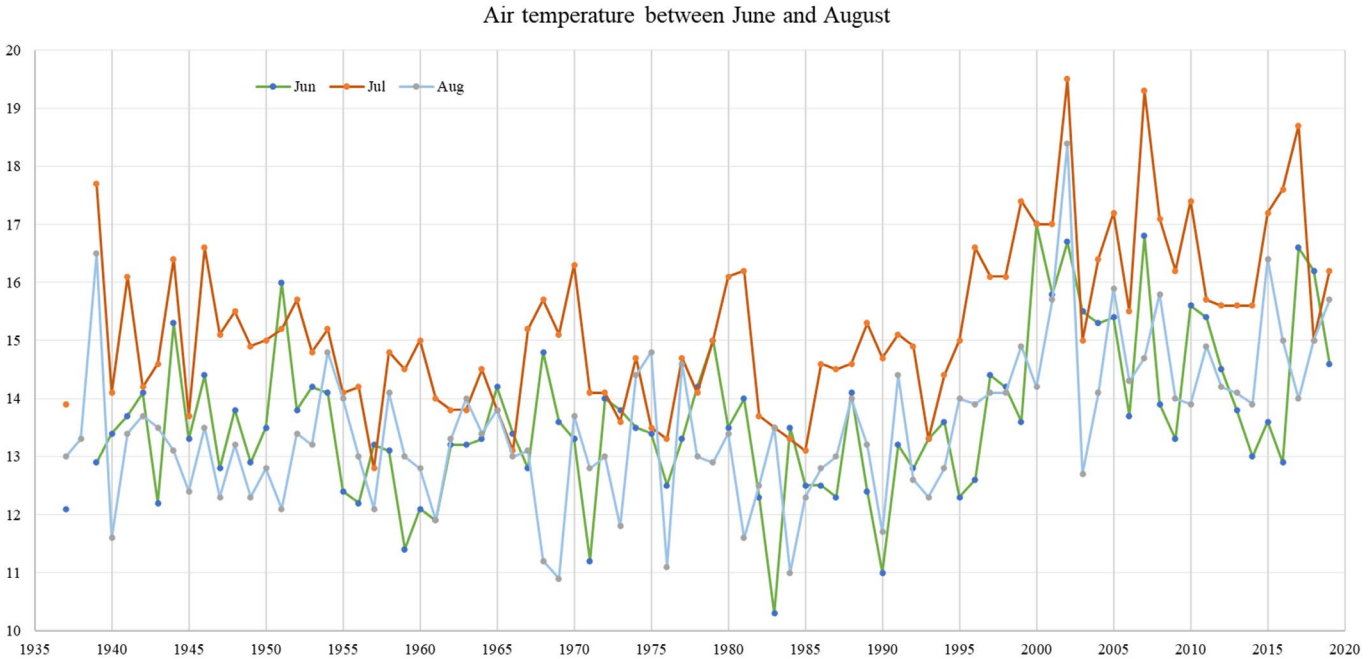


Fig.2. Air temperature of the surrounding area of Lake Ugii.

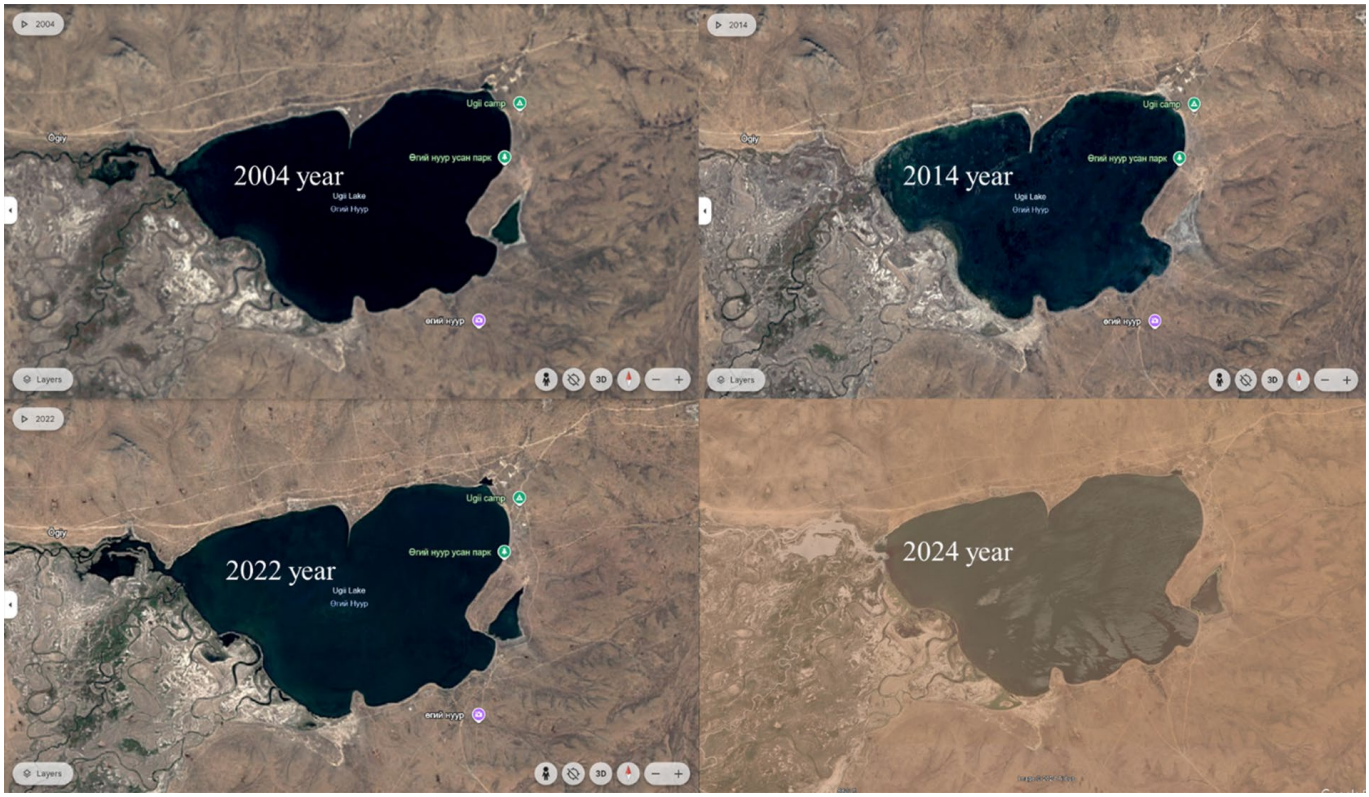


Fig.3. Changes in the surface area of Lake Ugii.

indicators for assessing the long-term effects of land-use change on aquatic ecosystems (Jüttner et al., 2021; Trábert et al., 2020; Mbao et al., 2020).

Accurate assessment of biodiversity and community structure is essential for understanding ecosystem condition, identifying environmental stressors, and supporting effective conservation and management strategies (Cazorla et al., 2020; Kapelkina and Teplyakova, 2021). Therefore, evaluating diatom assemblages and their relative abundance provides valuable information for assessing aquatic ecosystem status and identifying factors influencing ecological change.

The present study aimed to characterize the spatial variability of shoreline diatom assemblages in Lake Ugii, evaluate differences in community composition among sampling sites, identify indicator taxa associated with particular habitats, and examine relationships between community structure and selected environmental variables.

2. Material and methods

Benthic and planktonic algae samples were collected from 11 study sites along the shoreline of Lake Ugii in August 2024, each in a 100 mL container and fixed in 4% formalin (Bahls, 1993). Some bays, named after locals, are marked with blue circles in Fig. 4, starting from the source of Lake Ugii, such as the Hooloy River, and going eastward, such as Ugii–North 1. Dureing sampling, we measured water conductivity (μs/cm), temperature (C°), TDS (ppm), salinity (ppt), and pH.

For the identification of diatoms to the species level, a fixed preparation was prepared (Stoermer et al., 1995). This involved cutting a small amount of the collected sample to completely remove organic residues, dissolving it in 30 mL of 30% H_2O_2 in a sterile glass beaker, and gently heating it in a laboratory fume hood for about an hour. After cooling to room temperature, 30 mL of 70% HNO_3 was added; it was gently heated for another hour, and then deacidified by passing it through cooled distilled water. After the cleaned sample filled the area of the cover glass, dripping and evaporating, the permanent preparation was prepared by attaching the collection label to the glass slide with balsam and attaching it to the right-angled corner (Spaulding et al., 2021). The prepared fixed preparations were examined under a microscope at 1000× magnification with immersion oil and identified to the genus and species level using the basic identification guide (Metzeltin et al., 2009), (Krammer and Lange-Bertalot, 1991a; 1991b; 2000), and 400-600 plates or 200-300 individuals were counted per preparation (Taylor et al., 2007) to calculate the relative abundance of each species in the sample. Relative abundance was the number of individuals of a species counted in a given sample compared to the total number of individuals counted (Birks, 2010).

Species diversity was calculated based on the number of species in each group and the relative abundance of each species (Shannon, 1948). The Shannon-Wiener index of species evenness in a community was calculated based on the diversity value and species richness (Pielou, 1966).

Species composition recorded in 2024 was compared with historical data collected from the same sites in 2009 (Bukhchuluun and Soninkhishig, 2009).

Environmental indicator taxa, including indicators of nitrogen enrichment, phosphorus enrichment, salinization, ecological condition, and nitrogen-fixing taxa, were assigned following Stevenson (1997) and are summarized in Table 1.

Table 1. Ecological guild and indicator taxa of diatom

Ecological guild	Genera
Low-profile	*Amphora, Cocconeis, Diploneis, Encyonema, Fragilaria, Kolbesia, Lemnicola, Meridian, Planothidium, Reimeria, Rhoicosphenia*
High-profile	*Ctenophora, Cymbella, Cymbopleura, Diatoma, Gomphonema, Pseudostaurosira, Staurosira, Staurosirella,*
Motile	*Caloneis, Craticula, Cymatopleura, Epithemia, Fallacia, Geissleria, Gyrosigma, Hippodonta, Luticola, Navicula, Neidium, Nitzschia, Pinnularia, Rhopalodia, Sellaphora, Stauroneis, Surirella, Tryblionella*
Planktic	*Aulacoseira, Stephanocyclus, Cyclotella,*
High nitrogen concentrations	*Amphipleura pellucida, Cyclotella meneghiniana, Nitzschia frustulum,Nitzschia palea, Nitzschia sigmoidea*
High salinization process	*Amphipleura pellicuda, Amphora coffeaeformis, Caloneis silicula,Ctenophora pulchella Hantzschia amphioxys, Melosira varians, Nitzschia frustulum, Nitzschia palea, Rhopalodia gibberula*
Soil siltation index	Navicula, Nitzschia, and Surirella
High phosphorus concentrations	*Amphora pediculus, Cocconeis euglypta, Planothidium lanceolata, Reimeria sinuata, Rhoicosphenia abbreviata*

The genera identified in this study were assigned to ecological guilds following Passy (2007) and related literature. Representative genera associated with each guild are summarized in Table 1.

Ecological guild classification and environmental indicator classification were applied independently. Therefore, a species could simultaneously belong to an ecological guild (e.g., motile) and serve as an indicator of a particular environmental condition (e.g., nitrogen enrichment).

Species richness (S), relative abundance, diversity index (H'), and evenness index (J') were calculated using Microsoft Excel 2016. Analysis of variance (ANOVA) of taxonomic diversity was performed using JMP Pro 14. The original data were transformed into a multivariate analysis of variance (Legendre and Gallagher, 2001).

The soil erosion indicator was estimated using the soil siltation index and calculated as the summed relative abundance of taxa belonging to the genera Navicula, Nitzschia, and Surirella (Stevenson and Bahls, 1999). Diatom community data were analyzed using abundance matrices. Bray–Curtis dissimilarity was used to quantify differences in species composition among sampling sites. Patterns in community composition were visualized using non-metric multidimensional scaling (NMDS). Both two-dimensional and three-dimensional solutions were evaluated, and ordination quality was assessed using stress values. Differences in diatom assemblage composition among sampling sites were tested using permutational multivariate analysis of variance (PERMANOVA) based on Bray–Curtis dissimilarities with 999 permutations. To assess the assumption of homogeneity of multivariate

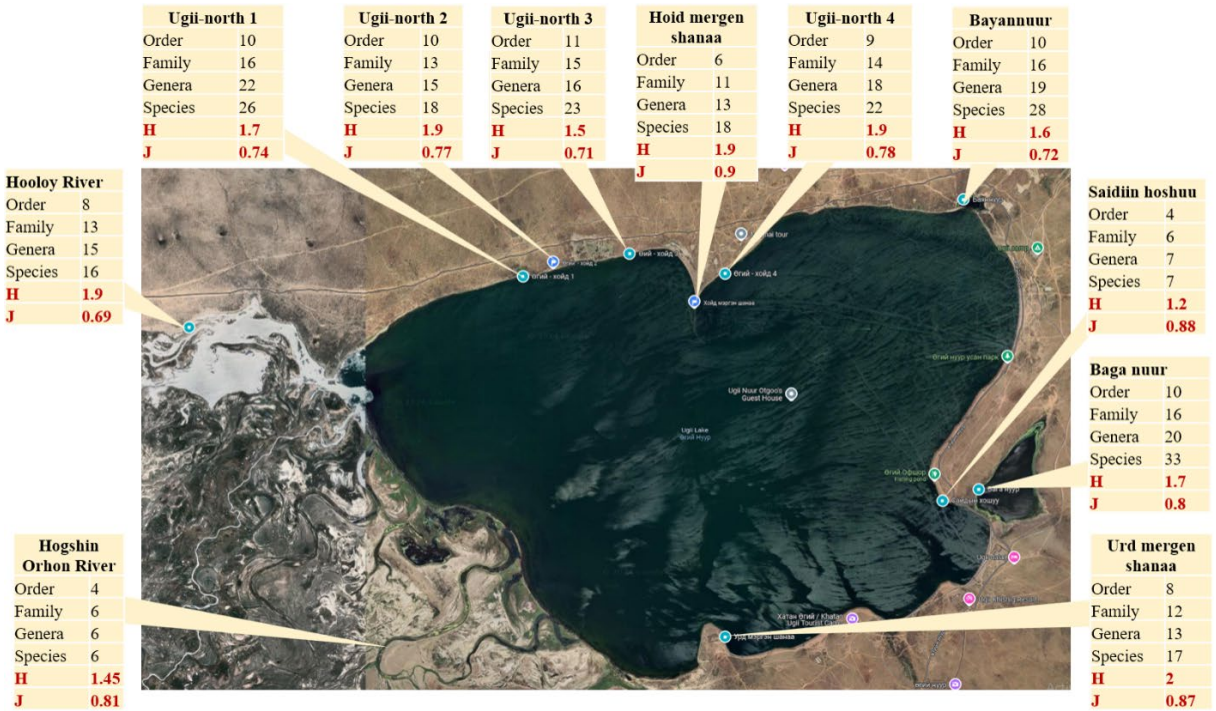


Fig.4. Study sites and diatom diversity.

dispersion, distances to group centroids were analyzed using PERMDISP (betadisper), and significance was evaluated using analysis of variance (ANOVA). Species contributing most strongly to differences among sites were identified using Similarity Percentage Analysis (SIMPER). Indicator Species Analysis (IndVal) was conducted to identify taxa significantly associated with particular sites. Statistical significance was evaluated using 999 permutations. All analyses were performed in R using the vegan and indicspecies packages.

3. Results

3.1. Species richness

Overall, 86 diatom species were identified from 26 samples, with *Gomphonema* and *Navicula* species being the richest in species composition. Low-profile species number was 11, high-profile–26, motile species–45, and plankton–4. The highest number of diatom species was recorded in Bayannuur and Baganuur, while the lowest number was recorded in Saidiin hoshuu and the Hogshin Orhon River. The mean value of the species richness of the diatom community in 26 samples was 10.6 ± 0.66, with a minimum value of 6 and a maximum of 33.

Among the species recorded in 2009, 78 were not observed in 2024, whereas 56 taxa were newly recorded. To identify the most ecologically important newly recorded taxa, species occurring in three or more samples of the 26 samples were selected, and their maximum relative abundance and occurrence frequency are presented in Fig. 5. Most newly recorded taxa were rare, with 40 taxa (71.4%) occurring in only one or two samples. In contrast, only 16 taxa were recorded in three or more samples. Among these, *Encyonema elginense* (Krammer) D.G.Mann was the most widespread species, occurring in 14 of the 26 samples, followed by *Pseudostaurosira brevistriata* (Grunow) D.M.Williams & Round (9 samples), *Craticula halophila* (Grunow) D.G.Mann (8 samples), *Cocconeis euglypta* Ehrenberg (8 samples), *Stephanocyclus meneghinianus* (Kützing) Kulikovskiy, Genkal & Kociolek (7 samples), and *Craticula ambigua* (Ehrenberg) D.G.Mann (7 samples).

Among the 78 taxa recorded in 2009 but not observed in 2024, 17 species belonged to the genus Navicula and 13 species–to the genus Nitzschia, indicating that species turnover was particularly pronounced within these two genera. In 2009, 59% of the species composition was motile, while in 2024, 51% was motile. Spatially, the species composition recorded in the Saidiin hoshuu on the eastern shore of Lake Ugii is in the same group as the results of 2009 and 2024.

Cluster analysis showed that most samples were grouped according to sampling year, indicating substantial temporal turnover in species composition between 2009 and 2024 (Fig. 6). Only 22% of taxa were shared between surveys.

3.2. Community structure

The species diversity index had a mean value of 1.8 ± 0.06, with a minimum of 1.11 and a maximum of 2.3. The evenness index had a mean value of 0.78 ± 0.01, with a minimum of 0.62 and a maximum of 1. The species richness index was 1.5–1.9 on the north and east shores of the lake, while the southern shore had 2. The evenness index was 0.69–0.88. There were no statistically significant differences in the species richness, species diversity, and evenness indices between the study sites.

Permutational multivariate analysis of variance (PERMANOVA) based on Bray–Curtis dissimilarities revealed significant differences in diatom community composition among the sampling sites ($F = 1.865$; $R^2 = 0.554$; $p = 0.001$). Site identity explained 55.4% of the total variation in community structure. Analysis of multivariate homogeneity of group dispersions (PERMDISP) indicated no significant differences in within-group dispersion among sites ($F = 2.154$; $p = 0.087$). Non-metric multidimensional scaling (NMDS) further

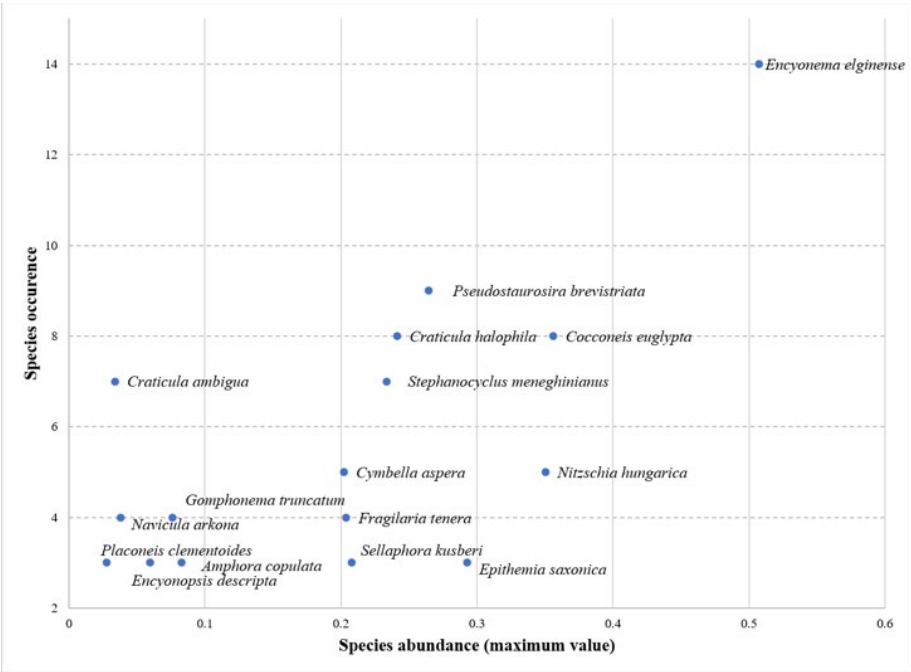


Fig.5. Occurrence and maximum relative abundance of newly recorded diatom taxa in Lake Ugii in 2024.

illustrated patterns of variation in community composition among sampling sites. The two-dimensional NMDS solution yielded a stress value of 0.208, whereas the three-dimensional solution reduced stress to 0.144, indicating a substantially improved representation of community structure in three-dimensional ordination space. A three-dimensional solution provided a better fit (stress = 0.144) than the two-dimensional ordination (stress = 0.208) (Fig. 7).

As Table 2 displays, PERMANOVA revealed significant differences in diatom community composition among sampling sites (p = 0.001), whereas PERMDISP indicated no significant differences in within-group dispersion (p = 0.087). Analysis of multivariate homogeneity of group dispersions (PERMDISP) indicated no significant differences in dispersion among sites (F = 2.15; p = 0.087). Therefore, the significant PERMANOVA result likely reflects differences in community composition rather than differences in within-group variability.

3.3. Indicator taxa and ecological guilds

Indicator Species Analysis (IndVal) identified five statistically significant indicator taxa associated with particular sampling sites. *Diatoma vulgaris* exhibited the highest indicator value (IndVal = 1.000; p = 0.019), followed by *Nitzschia paleae* (IndVal = 0.935; p = 0.005), *Encyonema elginense* (IndVal = 0.934; p = 0.037), *Epithemia sorex* (IndVal = 0.889; p = 0.042), and *Diatoma tenuis* (IndVal = 0.871; p = 0.036).

The diatom ecological group classification showed statistically significant differences between the study sites. The low-profile and plankton guilds were statistically different (P > 0.0312* and 0.0069), and the motile and high-profile were not statistically different (Table 3, Fig. 8).

3.4. Diatom-based environmental indicators

The salinization process of the lake water was df = 10; F = 5; P is 0.0027*; mean value was 0.07 ± 0.02; maximum value was 0.42; in the Hooloy River–0.35-0.41; in Bayannuur–0.4; in Baga Nuur–0.11-0.12; and in the Hogshin Orhon River–0.18. The nitrogen concentration indicator was df = 10; F = 5.5; P was 0.0016*; mean was 0.07 ± 0.02; maximum was 0.58; in the Hooloy River–0.33-0.57; in Bayannuur–0.38; and in the Khogshin Orkhon River–0.18. The salinization process was most pronounced in the Hooloy River and the Hogshin Orhon River, while the Hooloy River, Bayannuur, and the Hogshin Orhon River showed high nitrogen concentrations. The nitrogen concentration index was df = 10; F = 5.5; P was 0.0016*; mean value was 0.07 ± 0.02; maximum value was 0.58; in the

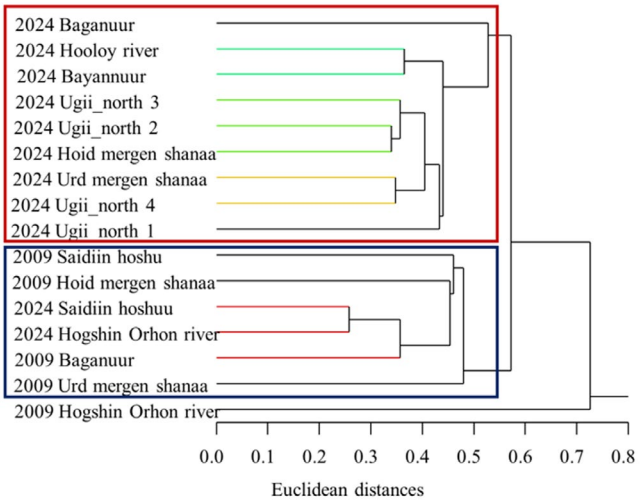


Fig.6. Cluster analysis of diatom species composition recorded in 2009 and 2024. Colors indicate major clusters identified based on species similarity. Samples from the two survey periods formed largely distinct groups, reflecting substantial temporal turnover in diatom assemblages.

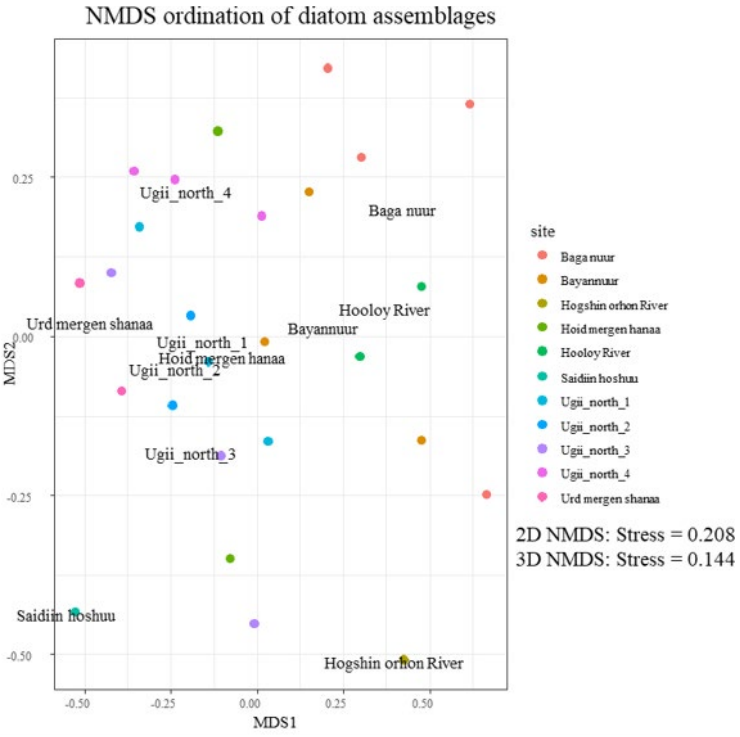


Fig.7. Non-metric multidimensional scaling (NMDS) ordination of diatom assemblages based on Bray–Curtis dissimilarities among sampling sites in the study area and associated habitats. Colors represent sampling sites. The two-dimensional solution yielded a stress value of 0.208. Significant differences in community composition among sites were confirmed by PERMANOVA (R^2 = 0.554; p = 0.001). Points represent individual samples (n = 26), while colors denote sampling sites. Samples originating from the same site share the same color.

Table 2. Results of PERMANOVA and PERMDISP analyses

Analysis	Df	F-value	R^2	p-value
PERMANOVA	10	1.865	0.554	0.001
PERMDISP	10	2.154	–	0.087

Table 3. Analysis of variance

Guild	Df	MS	F	P >
Low-profile	10	0.038	2.89	0.0312*
Motile	10	0.074	1.05	0.4510
High-profile	10	0.074	0.88	0.5701
Plancton	10	0.005	4.12	0.0069*

Hooloy River–0.33-0.57; in Bayannuur–0.38; and in the Hogshin Orhon River–0.18. However, the phosphorus indicator was df = 10; F = 0.76; P was 0.6629; mean value was 0.1 ± 0.02; maximum value was 0.4; at site 1 in Ugii_north–0.23; at site 3 in Ugii_north–0.38; at Hoid mergen shanaa–0.12-0.28; at site 4 in Ugii_north 0.24-0.28; at Bayannuur–0.39; and at Baganuur–0.2-0.23. It was high on the north, northeast, and east shores of the lake (Fig. 9).

The relative abundance of species indicating lake shore soil erosion was df = 10; F = 6.46; P was 0.007*; mean value 0.06 ± 0.02; maximum value was 0.5, and the highest values were recorded at Hoid mergen shanaa (0.14–0.15); Bayannuur (0.35), and Hogshin Orhon River (0.50) than at other sites. The relative abundance of species indicating soil erosion of the riparian zone was df = 10; F = 6.48; P was 0.0007*; mean value was 0.09 ± 0.02; maximum value was 0.56, and the highest values were recorded at Hoid mergen shanaa (0.15–0.28), Saidiin hoshuu (0.35), Urd mergen shanaa (0.13), and Hogshin Orhon River (0.56) than at other sites. The lowest values were recorded in the Hooloy River, and none–in Saidiin hoshuu (Fig. 10).

3.5. Relationships between diatom communities and environmental variables

The influence of environmental variables on diatom community composition was assessed by fitting environmental vectors onto the NMDS ordination using the envfit procedure. None of the measured physicochemical variables, including conductivity (Cond), temperature (Temp), total dissolved solids (TDS), salinity, and pH, showed a statistically significant relationship with community structure ($p > 0.05$). Correlation analysis further revealed very strong positive relationships among conductivity, TDS, and salinity ($r > 0.99$), indicating substantial redundancy among these variables (Table 4).

4. Discussion

Comparison with surveys conducted by Bukhchuluun and Soninkhishig (2009) revealed substantial temporal turnover in diatom assemblages. Only 22% of taxa were shared between 2009 and 2024, while 78 previously recorded taxa were no longer observed,

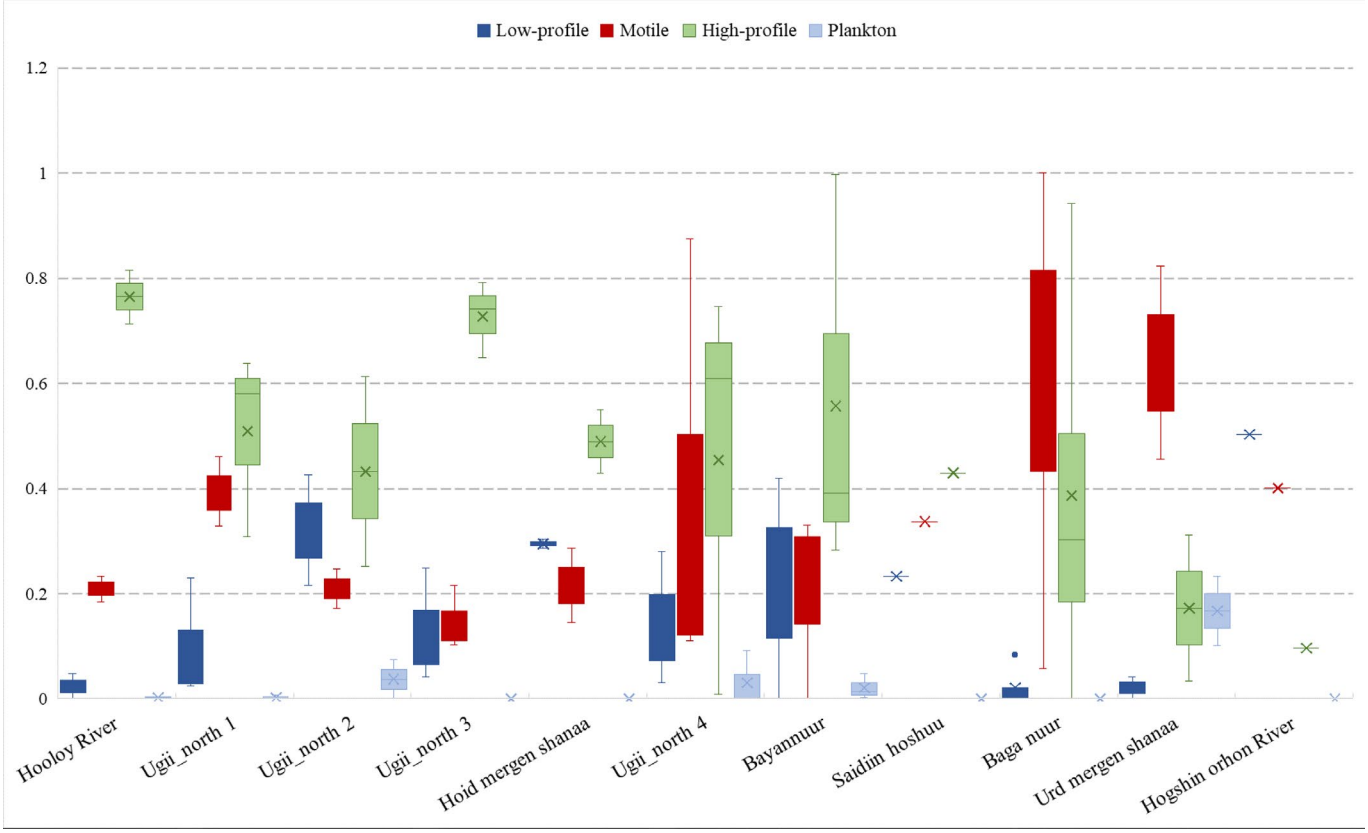


Fig.8. The relative abundance of ecological guilds at the study sites.

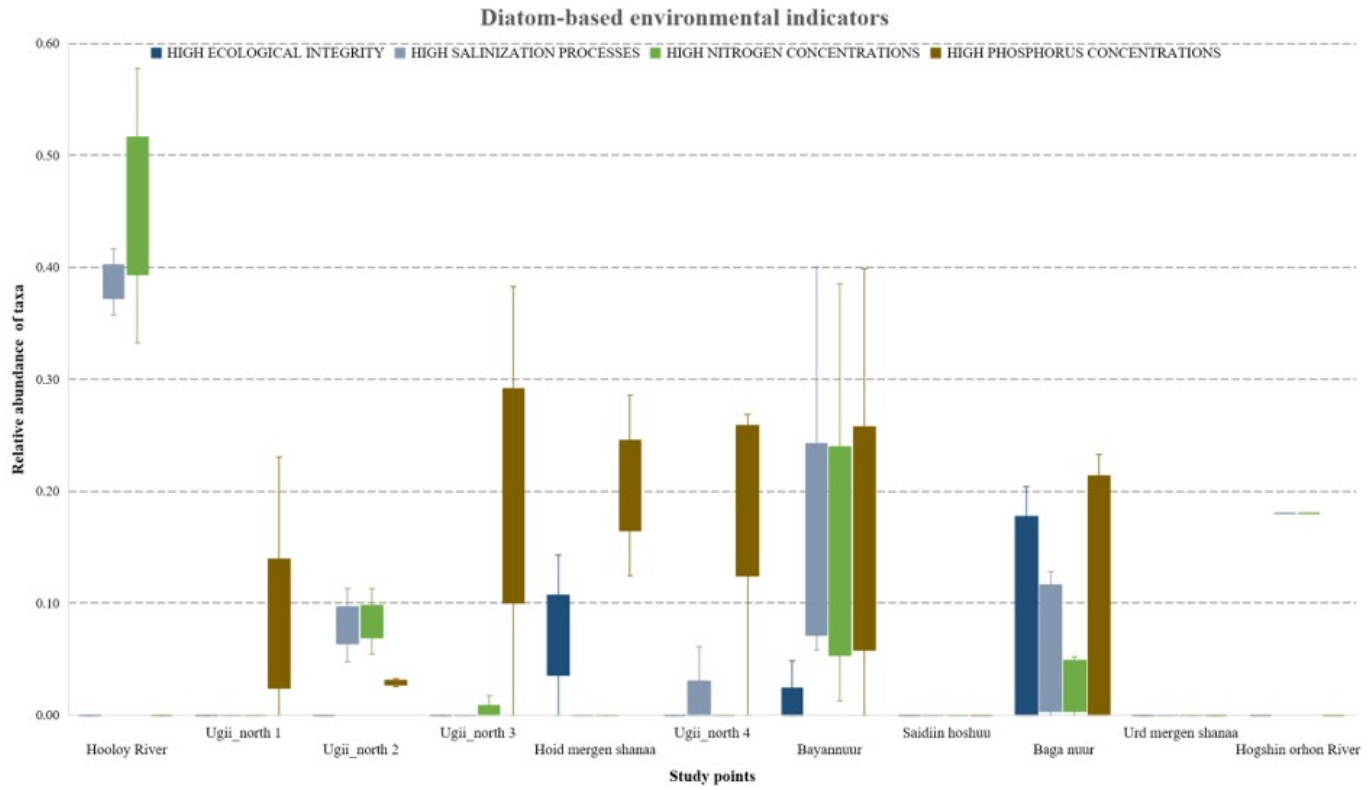


Fig.9. Diatom variables at the study sites.

and 56 taxa were newly recorded. The appearance of 56 newly recorded taxa does not necessarily imply that all species became important components of the community. Most newly recorded taxa were rare and occurred in only one or a few samples. In contrast, *Encyonema elginense*, *Pseudostaurosira brevistriata*, *Craticula halophila*, and *Cyclotella meneghiniana* were recorded frequently across sampling sites and therefore represent ecologically important additions to the contemporary diatom assemblage. Taxonomic turnover was especially obvious within the genera Navicula and Nitzschia, which together accounted for 30 of the 78 taxa not observed in 2024. Given the ecological diversity of these genera, their disappearance may reflect changes

Table 4. Results of environmental fitting (envfit)

Variables	r^2	p-value
Conductivity (µs/cm)	0.016	0.845
Temperature (C°)	0.041	0.641
TDS (ppm)	0.015	0.86
Salinity (ppt)	0.016	0.854
pH	0.033	0.687

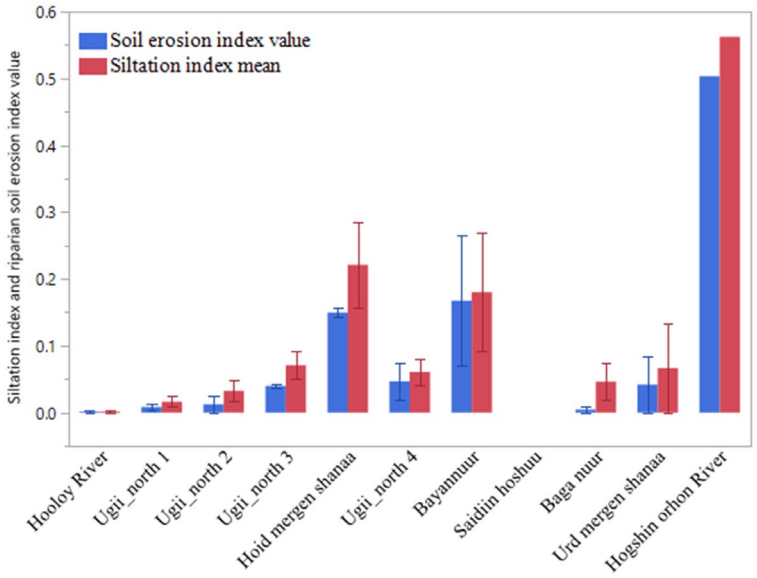


Fig.10. Indicator values of soil erosion in the riparian zones of the study sites.

in habitat conditions and environmental heterogeneity within the littoral zone of Lake Ugii.

This high species turnover suggests considerable ecological change within the Lake Ugii ecosystem during the past 15 years. The observed temporal changes coincide with increasing anthropogenic pressure and landscape transformation within the watershed, including the expansion of road networks, changes in land-use patterns, and greater human influence. These landscape-scale changes may have altered shoreline habitat conditions and ecological processes, thereby contributing to the observed restructuring of diatom assemblages. These long-term environmental changes may have altered habitat conditions and contributed to the restructuring of shoreline diatom communities. Diatom assemblages in Lake Ugii exhibited moderate diversity (mean Shannon index = 1.8 ± 0.06), while species composition differed substantially among sampling sites. Although the diversity and evenness indices did not differ significantly among sites, multivariate analyses revealed pronounced differences in community composition, indicating that spatial turnover in species assemblages occurred without major changes in overall diversity. The absence of significant differences in diversity and evenness among sites suggests that changes in community structure were driven primarily by species replacement rather than by changes in overall diversity. Direct comparisons with other Mongolian lakes are difficult because long-term repeated surveys of diatom assemblages remain scarce. Nevertheless, environmental changes associated with climate variability, grazing pressure, and land-use change were documented in several Mongolian lake basins, indicating that the ecological changes observed in Lake Ugii may reflect broader regional trends.

Based on the gradient of environmental resources, diatoms are classified as low-profile, high-profile, motile, and plankton (Passy, 2007), which is very useful for understanding the structure, organization, and evolution of benthic diatom communities (Tsoi et al., 2017).

When flow velocity, turbidity, or nutrient and light availability to the biofilm decrease, low-profile species crowd out high-profile species (Steinman, 1996; Peterson, 1996; McCormick, 1996; Tuji, 2000). When sediment content increases due to natural or human activities, the abundance of motile species increases (Stevenson and Bahls, 1999; Bahls, 1993; Fore and Grafe, 2002), and when sediment content decreases, the proportion of low-profile species increases (Dickman et al., 2005).

PERMDISP revealed no significant differences in within-group dispersion ($F = 2.154$; $p = 0.087$), suggesting that the significant PERMANOVA result reflects genuine differences in community composition rather than differences in within-site variability.

The occurrence of indicator taxa is especially important because diatoms are highly sensitive to local environmental conditions. Significant indicator taxa identified in this study further support the presence of habitat-specific assemblages and highlight the ecological heterogeneity of the Ugii Lake shoreline. The identification of distinct indicator species at different shoreline sites suggests that habitat characteristics, substrate conditions, nutrient availability, and shoreline processes vary considerably within the lake ecosystem. Therefore, spatial differences in community composition are not merely the result of random variation but reflect ecological differentiation among habitats.

Although conductivity, temperature, TDS, salinity, and pH did not largely explain variation in diatom assemblages, substantial landscape changes occurred around Ugii Lake between 2000 and 2020. Increasing road density, human influence, and land-use modification may have altered habitat conditions, nutrient dynamics, sediment inputs, and shoreline structure, thereby contributing to the spatial differentiation of diatom communities observed among sampling sites. The significant indicator taxa and high temporal turnover recorded between 2009 and 2024 further suggest that local habitat conditions and long-term environmental change have played important roles in shaping community structure. Overall, increasing anthropogenic pressure and landscape transformation in the Ugii Lake watershed have coincided with substantial temporal turnover and pronounced spatial differentiation of shoreline diatom assemblages.

5. Conclusion

Diatom diversity in Lake Ugii has declined compared to previous observations, indicating ongoing ecological change within the lake ecosystem. Significant spatial differences in community composition among shoreline sites revealed pronounced habitat heterogeneity around the lake.

Between 2000 and 2020, the Ugii Lake watershed experienced increasing anthropogenic pressure, including expansion of road networks, land-use change, population growth, and greater human influence. These landscape-scale changes likely contributed to the observed restructuring of shoreline habitats and diatom assemblages. Indicator species analysis further confirmed the presence of distinct habitat-specific communities.

Overall, increasing anthropogenic pressure and landscape transformation in the Ugii Lake watershed have coincided with substantial temporal turnover and pronounced spatial differentiation of shoreline diatom communities. Continued conservation and management efforts are needed to reduce human disturbance and maintain the ecological integrity of the lake ecosystem.

Conflict of interest

The authors declare no conflicts of interest.

References

Amgalan M., Matsumoto T., Ulaanbaatar T. et al. 2020. Estimation of evaporation from Ugii Lake using the energy budget method. Journal of Japan Society of Civil Engineers, Ser. G (Environmental Research) 76(5): I_301-I_309. DOI: 10.2208/jscejer.76.5 I 301

Amgalan M., Matsumoto T., Ulaanbaatar T. et al. 2020. Changes and Causes of Environmental Characteristics of Ogii Lake and Orkhon Valley, Mongolia. Journal of Water and Environment Technology 18(4): 199–211. DOI: 10.2965/jwet.19-093

Bahls L.L. 1993. Periphyton bioassessment methods for Montana streams. Water Quality Bureau, Department of Health and Environmental Sciences.

Baker A. 2003. Land use and water quality. Hydrological Processes 17(12): 2499–2501. DOI: 10.1002/hyp.5140

Birks H. 2010. Numerical methods for the analysis of diatom assemblage data. In: The Diatoms: Applications for the Environmental and Earth Sciences. Cambridge University Press, pp. 23–54.

Bukhchuluun Ts., Soninkhishig N. 2009. Diatom species composition in Lake Ugii, Mongolia. Scientific Journal of the Institute of Botany, Mongolian Academy of Sciences 21: 34–43.

Dagvadorj D., Batjargal Z., Natsagdorj L. 2014. MARCC-2014: Mongolia second assessment report on climate change-2014. (Ministry of Environment and Green Development of Mongolia).

Deeksha Shukla A.K., Rama Devi N. 2023. Impact of Land Use and Land Cover in Water Resources. In: Rai P.K. (Ed.), River Conservation and Water Resource Management. Springer Nature Singapore, pp. 217–231. DOI: 10.1007/978-981-99-2605-3_11

Dickman M.D., Peart M.R., Wai-Shu Yim W. 2005. Benthic Diatoms as Indicators of Stream Sediment Concentrationin Hong Kong. International Review of Hydrobiology 90(4): 412–421. DOI: 10.1002/iroh.200410806

Fore L.S., Grafe C. 2002. Using diatoms to assess the biological condition of large rivers in Idaho (U.S.A.): River diatom assessment. Freshwater Biology 47(10): 2015–2037. DOI: 10.1046/j.1365-2427.2002.00948.x

Cazorla P.B., Cabello J., Reyes A. et al. 2020. A remote sensing-based dataset to characterize the ecosystem functioning and functional diversity of a Biosphere Reserve: Sierra Nevada (SE Spain). Earth System Science Data Discussions, 2020, 1-20.

Chen L., Li Q., Ye H. et al. 2022. Identifying the effects of environmental factors on benthic diatom assemblages in typical tributaries of Taizi River, northeast China using the CCA method. Water Supply 22(8): 6576–6584. DOI: 10.2166/ws.2022.287

Jüttner I., Kelly M.G., Evans S. et al. 2021. Assessing the impact of land use and liming on stream quality, diatom assemblages and juvenile salmon in Wales, United Kingdom. Ecological Indicators 121: 107057. DOI: 10.1016/j.ecolind.2020.107057

Kapelkina L., Teplyakova T. 2021. The conditions and methods of biological diversity preservation and restoration on post-technogenic lands. BIO Web of Conferences 31: 00010. DOI: 10.1051/bioconf/20213100010

Krammer K., Lange-Bertalot H. 1991. Süßwasserflora von Mitteleuropa. Bacillariophyceae: Centrales, Fragilariaceae, Eunotiaceae. Vol. 2/3. Stuttgart & Jena: Gustav Fischer Verlag.

Krammer K., Lange-Bertalot H. 1991. Süßwasserflora von Mitteleuropa. Bacillariophyceae: Achnanthaceae. Kritische Ergänzungen zu Navicula (Lineolatae) und Gomphonema. Vol. 2/4. Stuttgart & Jena: Gustav Fischer Verlag.

Krammer K., Lange-Bertalot H. 2000. Bacillariophyceae. 3. Teil: Centrales, Fragilariaceae, Eunotiaceae. Süßwasserflora von Mitteleuropa. Vol. 2/3. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag.

Legendre P., Gallagher E.D. 2001. Ecologically meaningful transformations for ordination of species data. Oecologia 129(2): 271–280. DOI: 10.1007/s004420100716

Mbao E.O., Gao J., Wang Y. et al. 2020. Sensitivity and reliability of diatom metrics and guilds in detecting the impact of urbanization on streams. Ecological Indicators 116: 106506. DOI: 10.1016/j.ecolind.2020.106506

McCormick P.V. 1996. Resource competition and species coexistence in freshwater benthic algal assemblages. In: Algal Ecology: Freshwater Benthic Ecosystems. (Edˆ Eds R.J. Stevenson & M.L. Bothwell & R.L. Lowe). Academic Press.

Metzeltin D., Lange-Bertalot H., Soninkhishig N. 2009. Diatoms in Mongolia Iconographia Diatomologica. In: Lange-Bertalot H. (Ed.), Vol. 20, A. R. G. Gantner Verlag K. G., Ruggell, pp. 691.

Moe S.J., Mentzel S., Welch S.A. et al. 2023. From national monitoring to transnational indicators: Reporting and processing of aquatic biology data under the European Environment Agency's State of the Environment data flow. Frontiers in Environmental Science 11: 1057742. DOI: 10.3389/fenvs.2023.1057742

New M., Hulme M., Jones P. 2000. Representing Twentieth-Century Space–Time Climate Variability. Part II: Development of 1901–96 Monthly Grids of Terrestrial Surface Climate. Journal of Climate 13(13): 2217–2238. DOI: 10.1175/1520-0442(2000)013<2217:RTCSTC>2.0.CO;2

Nomindari D., Tuya S., Bayartugs T. 2024. The Effects of Anthropogenic Loads on Vegetation Cover and Natural Water Quality in the Ugii Lake Basin, Mongolia. Mongolian Geoscientist 29(58): 80-93. DOI: 10.5564/mgs.v29i58.3413

Pan Y., Herlihy A., Kaufmann P. et al. 2004. Linkages among land-use, water quality, physical habitat conditions and lotic diatom assemblages: A multi-spatial scale assessment. Hydrobiologia 515(1–3): 1–3. DOI: 10.1023/B:HYDR.0000027318.11417.e7

Passy S.I. 2007. Diatom ecological guilds display distinct and predictable behavior along nutrient and disturbance gradients in running waters. Aquatic Botany 86(2): 171–178. DOI: 10.1016/j.aquabot.2006.09.018

Peterson C. 1996. Response of benthic algal communities to natural physical disturbance. In: Stevenson R.J., Bothwell M.L., Lowe R.L. (Eds), Algal Ecology: Freshwater Benthic Ecosystems. Academic Press.

Pielou E.C. 1966. The measurement of diversity in different types of biological collections. Journal of Theoretical Biology 13: 131–144.

Prommi T.O. 2023. Water quality assessment in an irrigation pond based on adult caddisfly (Insecta: Trichoptera) assemblages. Ecologica Montenegrina 62: 87–100. DOI: 10.37828/em.2023.62.11

Santos M.J., O'Connor J.C., Nguyen K. et al. 2023. Effects of land use change on water-related ecosystem services in the Amazon Basin. Egusphere. DOI: 10.5194/egusphere-egu23-14983

Shannon C.E. 1948. A mathematical theory of communication. Bell System Technical Journal 27: 379–423, 623–656.

Spaulding S.A., Potapova M.G., Bishop I.W. et al. 2021. Diatoms.org: Supporting taxonomists, connecting communities. Diatom Research 36(4): 4. DOI: 10.1080/0269249X.2021.2006790

Steinman A.D. 1996. Effects of grazers on freshwater benthic algae. In: Stevenson R.J., Bothwell M.L., Lowe R.L. (Eds), Algal Ecology: Freshwater Benthic Ecosystems. Academic Press.

Stevenson R.J., Bahls L.L. 1999. Periphyton protocols. In: Barbour M.T., Gerritsen J., Snyder B.D. et al. (Eds.), Rapid Bioassessment Protocols for Use in Streams and Wadeable Rivers: Periphyton, Benthic Macroinvertebrates and Fish (2nd ed., EPA 841-B-99-002). U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water, Washington, DC.

Stevenson R.J. 1997. Scale-dependent determinants and consequences of benthic algal heterogeneity. Journal of the North American Benthological Society 16: 248-262.

Stoermer E.F., Edlund M.B., Pilskaln C.H. et al. 1995. Siliceous microfossil distribution in the surficial sediments of Lake Baikal. Journal of Paleolimnology 14(1): 1. DOI: 10.1007/BF00682594

Taylor J., Harding W., Archibald C. 2007. A methods manual for the collection, preparation and analysis of diatom samples. Water Research Commission (WRC).

Trábert Z., Duleba M., Bíró T. et al. 2020. Effect of Land Use on the Benthic Diatom Community of the Danube River in the Region of Budapest. Water 12(2): 479. DOI: 10.3390/w12020479

Tsoi W.Y., Hadwen W.L., Sheldon F. 2017. How do abiotic environmental variables shape benthic diatom assemblages in subtropical streams?. Marine and Freshwater Research 68(5): 5. DOI: 10.1071/MF15388

Tuji A. 2000. The effect of irradiance on the growth of different forms of freshwater diatoms: implications for succession in attached diatom communities. Journal of Phycology 36(4): 659–661. DOI: 10.1046/j.1529-8817.2000.99212.x

Wang Y.-K., Stevenson R.J., Metzmeier L. 2005. Development and evaluation of a diatom-based Index of Biotic Integrity for the Interior Plateau Ecoregion, USA. Journal of the North American Benthological Society 24(4): 4. DOI: 10.1899/03-028.1

Zakharenko M.O., Kurbatova I.M., Poliakovskyi V.M. 2022. Assessment of the ecological state of waters by the species composition of zooplankton and phytoplnakton. Biolohichni Systemy 14(1): 72–81. DOI: 10.31861/biosystems2022.01.072

Zou Y., Mao D. 2022. Simulation of Freshwater Ecosystem Service Flows under Land-Use Change: A Case Study of Lianshui River Basin, China. Sustainability 14(6): 3270. DOI: 10.3390/su14063270

Original Article

Phytoplankton development in a floodplain water body during winter and ice-free periods under different winter phenology conditions (Lake Lunskoe, Middle Volga basin, Russia)

Vodeneeva E.L.[1]*, Sharagina E.M.[1], Zhurova D.A.[1,2], Startseva N.A.[1], Kulizin P.V.[1]

[1] National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod (UNN), pr. Gagarin, 23, Nizhny Novgorod, 603950, Russia
[2] Water Problems Institute of the Russian Academy of Sciences, Gubkina str., 3, Moscow, 119333, Russia

ABSTRACT. Climate change is transforming the winter regime of water bodies–reduced ice cover and increased thaws and winter floods require a reassessment of the role of the under-ice period in phytoplankton life. Floodplain water bodies remain especially poorly studied, as their response to winter phenological anomalies can be unpredictable. This study analyzes the seasonal dynamics of phytoplankton in the small eutrophic oxbow Lake Lunskoye (Middle Volga basin) in years with different winter phenology (2023 and 2025–2026). The lake experiences significant anthropogenic pressure and regular outbreaks of cyanobacterial blooms. Winter is demonstrated to be an active period for phytoplankton development. During the cold, snowy winter of 2023, an under-ice bloom (biomass up to 11.8 g/m^3) of the non-heterocyst cyanobacteria, *Planktothrix agardhii* (Gom.) Anagn. et Kom. (up to 86% of total values) and *Limnothrix redekei* (Van Goor) Meffert (up to 55%), was recorded, remaining dominant throughout the summer. These algal blooms occurred both in the under-ice water and within the ice (especially in the crystalline part), exceeding the growth rates in the under-ice layer by up to twice. During the abnormally warm "Atlantic" winter of 2025, mixotrophic cryptomonads (*Cryptomonas* spp. and *Komma caudata* (Geitler) D.R.A. Hill) dominated, creating a winter flood biomass peak of up to 21 g/m^3, comparable to summer data. In the winter of 2026, which was similar in phenology to 2023, under-ice phytoplankton was diatom-dominated. Algal development was weak in the ice but more active in the upper snow fraction, which periodically melted during thaws. A seasonal succession was revealed in the ice structure: from a heterogeneous "predecessor" community to monodominance of green algae in white ice, a cryptophyte complex in crystal ice, or complete dominance of diatoms.The obtained results refute the simplified idea that any warming stimulates cyanobacteria and demonstrate that the "atlantization" of winter can lead to the replacement of cyanobacteria by cryptophytes.

Keywords: phytoplankton, ice algae, under-ice communities, cyanobacteria, cryptophytes, winter phenology, Middle Volga basin

For citation: Vodeneeva E.L., Sharagina E.M., Zhurova D.A., Startseva N.A., Kulizin P.V. Phytoplankton development in a floodplain water body during winter and ice-free periods under different winter phenology conditions (Lake Lunskoe, Middle Volga basin, Russia) // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - P. 632-658. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-632

1. Introduction

Climate fluctuations are among the most important factors driving changes in various ecosystems, as well as in the structural organization of their inhabiting communities (Bogatov and Fedorovskiy, 2016; Golubkov, 2021). Most climate models predict a significant increase in temperature, especially in middle and high latitudes. According to projections, by the end of the 21st century, sea surface temperature may rise by 1.1–6.4 °C, and that of large freshwater bodies–by up to 10 °C (Thompson et al., 2005; Huertas et al., 2011). These events will inevitably entail transformations in hydrological regimes, water mass stratification, and biogeochemical cycles, ultimately leading to shifts in food web structure and ecosystem productivity (Salmaso and Cerasino, 2012).

*Corresponding author. E-mail address: vodeneeva@mail.ru (E.L. Vodeneeva)

Received: July 03, 2026;
Accepted after revised: August 24, 2026;
Available online: August 28, 2026

© Author(s) 2026. This work is distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

Climate change often triggers the development of anomalous weather events. Sharma et al., (2020) indicated that lakes in Northern Europe show a trend towards a shorter icecover period and later ice formation dates. The number of abnormally warm winters is increasing, which is associated with the processes of "Atlantification"–enhanced transport of moist and warm air masses from the Atlantic (Salmaso and Cerasino, 2012). Rising winter temperatures and abundant rainfall are reflected in the winterspring dynamics of surface runoff. Increased surface runoff leads to a greater input of nutrients into water bodies and the risk of their further eutrophication (Golubkov, 2021).

Phytoplankton, as a key component of aquatic food webs and a contributor to about half of global primary production, can serve as an indicator and "harbinger" of climate change (Huertas et al., 2011). The study of phytoplankton's ability to adapt to projected warming has become a pressing issue. However, given the polyphyletic complexity of the phytoplankton community, different responses and development scenarios in reaction to climatic anomalies are expected.

Cyanobacterial blooms and earlier timing of their peak development are among the most anticipated consequences of rising temperatures and shortening icecover periods in lakes (Snitko, 2006; Babanazarova et al., 2011; Downing et al., 2001; Ho and Michalak, 2017; Macário et al., 2017). The high ecological plasticity of cyanobacteria, characterized by their morphological features (such as gas vacuoles and mucous colony formation), and physiological traits (including the use of a broad light spectrum for photosynthesis, low susceptibility to grazing pressure, toxin production, etc.) (Codd et al., 2005; Carey et al., 2012) give these phototrophic prokaryotes a competitive advantage during warm periods compared to other phytoplankton counterparts (Lenard et al., 2019). In colder months in temperate lakes, the role of cyanobacteria may decline, while that of diatoms, dinoflagellates, and cryptomonads increases (Nõges et al., 2010). However, recent studies convincingly demonstrate that this view is oversimplified. For instance, the review article "Blooms also like it cold" (Reinl et al., 2023) summarizes data on more than thirty cases of cyanobacterial blooms at water temperatures below 15°C. The authors distinguish three types of such blooms: those initiated and sustained in cold water; metalimnetic blooms (brought to the surface from deeper layers); and "relic" blooms–those that started in warm weather and persisted into cold conditions.

Recently, the role of the winter in shaping lake phytoplankton communities for the entire subsequent year has been widely discussed. Summer and winter environmental conditions differ markedly, especially in terms of temperature and light, and these differences are partly reflected in algal parameters (Obertegger et al., 2022). When comparing summer with the underice period, total phytoplankton biomass and chlorophyll-*a* (chl-*a*) as a proxy for phytoplankton biomass are typically lower in winter than in summer, although exceptions exist (Dokulil, 2014; Hampton et al., 2017). Furthermore, winter usually favors small algae (<100 μm^3) due to less mixing compared to summer (Dokulil, 2014). However, a largescale analysis of data from over 100 lakes revealed no common trends in phytoplankton community composition from summer to winter, except for a tendency towards more cyanobacteria and fewer chlorophytes in summer than in winter (Hampton et al., 2017). An analysis of winter climatic fluctuations (Lenard et al., 2019) revealed that cold or mild winters affect both abiotic and biotic parameters of phytoplankton in the studied lakes during the growing season. Concentrations of dissolved and total nitrogen, chlorophyll-*a* concentration, total phytoplankton biomass, and biomasses of cyanobacteria and cryptophytes were significantly higher in growing seasons following mild winters, whereas dissolved and total phosphorus concentrations, and phytoplankton diversity could be significantly lower in those years. Longterm observations in a shallow Austrian lake (Dokulil and Herzig, 2009) indicated that mean winter phytoplankton biomass increased by an order of magnitude over recent decades, and community composition shifted substantially towards Cyanobacteria. At the same time, winter plankton development critically depends on the duration of ice cover, which in turn is linked to climatic signals (such as the North Atlantic Oscillation), and on the biomass accumulated in the preceding autumn. Thus, climate warming combined with frequent mild winters may promote massive phytoplankton development, which could indirectly affect the biodiversity of algal communities in temperate lakes.

The formation of ice cover is one of the key factors regulating phytoplankton development in winter. Light penetration, an essential factor for phototrophs, can vary depending on ice quality and quantity, as described in the lake ice continuum concept (Cavaliere et al., 2021). Reinl et al. (2023) reported that increased winter algal biomass was largely associated with either milder winters, shorter icecover duration, or better light conditions under transparent ice. On the other hand, ice is a specific habitat for living organisms–almost devoid of nutrients, with temperatures below zero and limited mobility for organisms. The biota of freshwater ice remains poorly studied. Freshwater ice exists for a much shorter time than sea ice; it is a monolithic formation with a poorly developed channel system (Salonen et al., 2009). Therefore, there are only algae frozen into the ice (anabiocenosis), and they resume active life only after ice melting (Afonina et al., 2017). The composition of the phytoplankton from which the ice was formed primarily determines the composition of ice algae (Bazhenova and Korzhova, 2014). However, not all species can withstand the stressful conditions of prolonged ice residence, so the cryophyton may acquire specific features (Slastina et al., 2011; Tashlykova, 2012; Bazhenova and Korzhova, 2014). In this regard, during monitoring activities, alongside phytoplankton studies, the ice community should also be investigated, as the processes occurring there may be no less significant for the lake's functioning.

In recent years, the Middle Volga basin has been characterized by high interannual variability of winter conditions (Kitaev, 2014), so assessing the effect of win-

ter type (with pronounced “atlantification” vs. classical winter) on the seasonal development of phytoplankton in lakes that experience regular cyanobacterial blooms remains a highly relevant task. The aim of our study was to evaluate the seasonal and interannual dynamics of phytoplankton and ice algae in the floodplain eutrophic Lake Lunskoe (an oxbow of the Volga River), situated in an urbanized watershed, during years with different winter types–one with pronounced “atlantification” (anomalously warm with a winter flood in 2024–2025) and one with a traditional winter regime (2022–2023 and 2025–2026). Understanding the revealed patterns is necessary for forecasting the risks of water “blooms”, water resource quality, and ecosystem sustainability under conditions of climatic instability.

2. Materials and methods

The floodplain Lake Lunskoe is a cutoff meander (oxbow) of the Volga River, situated within the boundaries of the large metropolis of Nizhny Novgorod (56°23’23.93”N, 43°47’56.60”E). According to its morphometric characteristics, Lake Lunskoe belongs to the category of small to very small water bodies. The lake area is 0.37 km^2; length–1188 m; maximum width–438 m; mean depth–2.8 m; and maximum depth–7.0 m. Bottom sediments are sandysilty. Several streams flow into the lake, and a channel enclosed in a steel pipe exits from its eastern end (Startseva et al., 2026). The lake water belongs to the bicarbonate class, CaNa + K group of type I; it is oligoalkaline by pH, of predominantly moderate mineralization, and rich in nutrients (Gelashvili et al., 2005). The physicochemical parameters of water and the level of phytoplankton quantitative development characterize the water body as highly eutrophic (Startseva and Okhapkin, 2003; Startseva et al., 2026). City residents actively use the lake for recreational purposes. For many years, cyanobacterial “blooms” have been recorded in the lake during summer.

The studies were conducted in 2023 and 2025–2026. Integrated phytoplankton samples were collected from the pelagic part of the lake (stations 1–3) (Fig. 1) using a 1L Ruttner bottle sampler. In 2023, sampling was carried out once a month from June to September, and once in March from underice water and from ice. In 2025–2026, regular monthly surveys were conducted from January 2025 to March 2026. Ice core samples for subsequent cryophyton analysis were taken with a ring ice auger of 150 mm diameter. The ice cores were preliminarily sawn into fractions–snow (white) and transparent (crystal) ice. They were then thawed at room temperature in tightly closed containers. The volume of melted water was 0.5–0.8 L.

Algal material was preserved using a 40% iodine-formalin fixative (plankton 0.5 L samples were fixed in the field; ice samples–in the laboratory). Simultaneously with sampling, temperature (T), electrical conductivity (EC), pH, as well as ice and snow cover thickness, were measured; during the icefree period, water transparency (by Secchi disk) was measured. Water samples for hydrochemical analysis were also collected (except for the period from June to September 2025).

Phytoplankton samples were concentrated by direct filtration through membrane filters of the “Vladipor” brand with a pore diameter of 1.5–3.0 μm. Microscopic examination of the samples was carried out using MeijiTechno 4200L (Japan) and Olympus (CX31) light microscopes. The following biotic parameters were analyzed: number of species per sample, total abundance (N_{total}, million cells/L) and biomass (B_{total}, g/m^3), contribution of the main algal taxa to abundance (N, %) and biomass (B, %), and the composition of dominant species. A detailed description of the sample preparation procedure for microscopy and counting of algal abundance and biomass is given in our previous works (Vodeneeva et al., 2020; Okhapkin et al., 2022; Sharagina et al., 2024), and the most comprehensive list of identification guides used for species determination is provided in Vodeneeva and Kulizin (2019). Taxon names are given in accordance with current nomenclatural changes presented on the AlgaeBase website (Guiry and Guiry, 2026). Phytoplankton species with a biomass ≥10% of the total were considered dominant.

In the laboratory, a hydrochemical analysis of the water was conducted. The following parameters were determined: total (TP), mineral (TIP), and organic (TOP) phosphorus; concentrations of nitrites (NO_2^-), nitrates (NO_3^-), silicon (Si), and major ions (bicarbonates (HCO_3^-), sulfates (SO_4^{2-}), calcium (Ca^{2+}), magnesium (Mg^{2+})); as well as hardness, turbidity, and color indices. A detailed description of the procedure for determining the hydrochemical parameters has been provided previously (Vodeneeva et al., 2024). The East Atlantic (EA) oscillation index was used as a characteristic of weather. EA index data for the study period were obtained from the website http://seakc.meteoinfo.ru.

To assess the relationships, Spearman’s rank correlation coefficient (ρ) was used because of the abnormal distribution of the data (normality was tested using the Shapiro–Wilk test). Correlations with $p < 0.05$ were considered statistically significant. To assess interannual differences in phytoplankton biomass, the non-parametric Kruskal–Wallis test was used. Calculations and graphing were performed using Excel and Python.

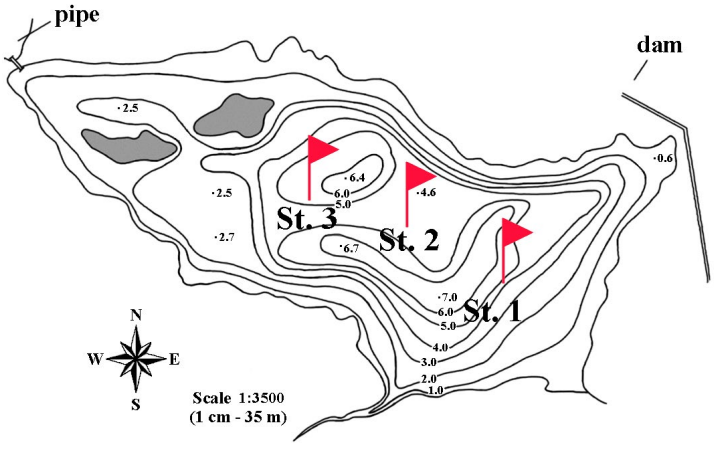


Fig.1. Schematic map of Lake Lunskoe showing phytoplankton sampling stations.

3. Results and discussion

3.1. Climatic and abiotic conditions during the study period

The studies were conducted during years that differed in winter phenology. The main climatic parameters of the winter period in the years of the study are presented in Table 1.

The winter of 2022–2023 was characterized by moderately cold temperatures (February average of -6.4°C against the norm of -8.0°C; deviation +1.6°C), but abundant precipitation (December–148% of normal; March–155% of normal), which led to the formation of a thick snow cover (30 cm) at the end of winter and thick ice (70 cm). The EA atmospheric circulation index showed sharp fluctuations: from strongly negative values in December (-0.99) to positive ones in February (1.02), which is typical for unstable circulation with intrusions of Arctic air.

In contrast, the winter of 2024–2025 was characterized by milder conditions: ice thickness was half as much (in March 2025–31–40 cm vs. 70 cm in 2023), and snow cover was thin (10 cm). The EA index remained consistently positive throughout the season (0.29–0.77), which is characteristic of the "Atlantic" type of winters with an influx of warm and moist air, frequent thaws, and rain (Salmaso and Cerasino, 2012; Golubkov, 2021). In the European part of Russia, the winter of 2025 was marked by weather anomalies such as high temperatures, rainfall, and early ice melt (ice breakup in river ecosystems began in late January, and on lakes–in midMarch).

The winter of 2025–2026 can be described as the most severe: the average February temperature (-10.1°C) was 2.1°C below normal, while January and February were characterized by extreme precipitation (251% and 229% of normal, respectively). Ice thickness reached 33–54 cm, with the proportion of crystal ice being minimal (6–17 cm), indicating a significant snow cover that formed a considerable white ice fraction (up to 30 cm) (Table 1). The EA index fluctuated from positive values in December (0.65) to nearzero values in February (0.12), reflecting a less pronounced Atlantic influence. The main changes in the hydrochemical and hydrophysical parameters of Lake Lunskoe water are presented in Table 2.

According to the results of hydrochemical analysis, the ionic composition of the lake waters showed relative constancy both spatially (throughout the entire water area) and interannually, including data from earlier studies (Startseva, 2002). Following the classification of natural waters by O.A. Alekin (1946), the lake belongs predominantly to the class of bicarbonate waters of the calcium group, type III. However, in autumn, a shift towards type II may occur, mainly due to an increase in sulphate concentrations. Moreover, in January 2026, an increase in Mg^{2+} ions (by a factor of 1.5–3 compared to December 2025 values) and their predominance in the ionic composition of the lake water were recorded, without a significant change in total water hardness.

Lake Lunskoe was characterized by weakly expressed summer thermal stratification. Its waters warmed uniformly throughout the entire icefree period. During the icecover period, the highest temperatures were recorded in the bottom layers (2–4°C), while the underice layer was 0–1°C. No oxygen limitation was observed in the lake; oxygen saturation normally exceeded 100%, which was recorded both in the surface and bottom layers.

The water color of Lake Lunskoe varied within the range of 3–55°Pt-Co, and for most of the year the value did not exceed 15–20° Pt-Co, which allows the water body to be characterized, on the whole, as oligohumic (Kitaev, 1984). More intense water coloration was observed in certain months: for example, the maximum color was recorded in January 2025 (52–55° Pt-Co), while in July and September it reached 30–35° Pt-Co.

Total phosphorus concentration in Lake Lunskoe did not exceed 70–80 μg/L. During the growing season, phosphorus predominated in organic form (65–90%) due to active consumption of mineral compounds and the dieoff of aquatic organisms. Towards winter, the proportion of mineral phosphorus increased: in December, it accounted for ~60%, and in February 2026, it reached 90% (Fig. 2).

Table 1. Main climatic parameters of winter during the study period (I–III, XII–months)

Parameters	2022–2023 winter	2024–2025 winter	2025–2026 winter
Temperature, °C min/max	-29.8 (I) / +10.2 (III)	-16.5 (I) / +17.0 (III)	-25.4 (II) / +16.5 (III)
Temperature deviation from normal min/max	-0.5 (I) / +3.0 (III)	-2.2 (II) / +5.0 (III)	-2.1 (II) / +4.3 (III)
Precipitation max, mm	87 (XII)	60 (I)	125 (I)
% of the precipitation norm (maximum excess)	155 (III)	120 (I)	251 (I)
Ice thickness*, cm (white/crystal)	20 / 50	13 / 20	29 / 12
Snow thickness*, cm	30	5	Absence of snow
Atmospheric Circulation Index EA** (December/January/February)	-0.99 (XII) / -0.54 (I) / 1.02 (II)	0.73 (XII) / 0.29 (I) / 0.77 (II)	0.65 (XII) /-0.04 (I) / 0.12 (II)

Note:
* Data are given only for March.
** According to the data from http://seakc.meteoinfo.ru/.

Table 2. Hydrochemical and hydrophysical parameters of Lake Lunskoe water during the study period (above the line – the range of average (3 stations) data for the winter period; below the line – during the openwater period)

Parameters	2023	2025	2026*
T, °C (min–max)	0.8–1.6	0–0.8	0–1.4
	16.8-22.1	2.9-24.3	
pH (min–max)	7.9–8.1	7.3-–7.7	7.6-–7.8
	8.2–9.1	7.–8-8.5	
O_2, % (min–max)	no data	72.8–148	51.1–128.6
	78.6–140	37.5–141	
EC, μSm/cm (min–max)	252–264	280–505	451–470
	262–415	216–478	
TP, μg/L (min–max)	59	33–64	28–67
	no data	42–68	
NO^{3-}, mg/L (min–max)	2.1	1.9–5.8	3.9–5.7
	no data	0.8–2.8	
Si, mg/L (min-max)	3.5	1.1–3.1	1.6–2.0
	no data	0.6–1.2	
SO_4^{2-}, mg/L (min–max)	48.3	27.1–67.8	62.9–94.3
	no data	25.4–57.7	
HCO_3^-, mEq/L (min–max)	1.5	1.5–1.9	1.6–2.2
	no data	1.1–1.7	
Ca^{2+}, mg/L (min–max)	37.4	22.6–89.7	6.0–27.1
	no data	3.0–64.3	
Mg^{2+}, mg/L (min–max)	17.2	3.6–31.7	11.4–23.8
	no data	0.9–26.5	
Water hardness, mEq/L (min–max)	3.3	1.9–6.0	2.1–2.6
	no data	0.2–4.2	
Turbidity, FTU (min–max)	6.6	6.6–7.9	5.3–7.6
	no data	6.3–7.6	
Water chromaticity, °Pt-Co (min–max)	4	3–55	1–10
	no data	6–33	

Note: * For 2026, data are given for the period of December 2025 – March 2026

The nitrate concentrations in the upper layers of the water mass varied from trace amounts of 0.4–0.7 mg/L, mainly in the second half of summer, to 5–7 mg/L in winter (Fig. 3). Significant nitrite concentrations (>300 μg/L) were not detected during the study period.

The concentration of silicon compounds in the surface horizon during the entire 2025–2026 study period ranged from 0.5 mg/L to 2.7 mg/L. The minimum concentration of the element in the water was recorded in April–May and August, which was due to active phytoplankton development, while concentration peaks were mainly confined to the winter months.

3.2. Phytoplankton development during the winter and icefree periods

The number of species and intraspecific taxa in the phytoplankton communities of Lake Lunskoe varied from 6 to 56 in winter and from 25 to 105 in the icefree period. The dynamics of phytoplankton development were characterized by marked interannual variability (Fig. 4).

In 2023, phytoplankton development indices in Lake Lunskoe ranged from mesotrophic (2–5 g/m^3) to eutrophichypertrophic (10–31 g/m^3) values. During the winterspring period of 2023 (March), despite a thick snow cover and considerable ice thickness, underice "blooming" of cyanobacteria was recorded (Fig. 4). The abundance of underice phytoplankton across the lake area varied from 70 to 294 million cells/L, with biomass ranging from 1.62 to 11.81 g/m^3.

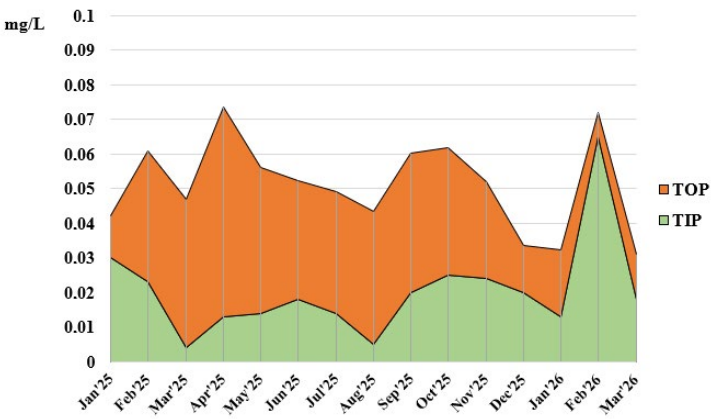


Fig.2. Concentrations of inorganic (TIP) and organic (TOP) phosphorus forms in the surface waters of Lake Lunskoe, January 2025–February 2026.

Cyanobacterial blooms can be successfully initiated and maintained at temperatures below 15 °C, including under the ice, as demonstrated by numerous studies (Toporowska et al., 2010; Babanazarova et al., 2013; Wejnerowski et al., 2018). Changes in factors such as light, thermal structure, and nutrient availability determine the impact of climate change on coldwater cyanobacterial blooms. For example, precipitation on snowcovered ice was found to cause the formation of white ice, which reduces light penetration through the ice and may promote the development of cyanobacterial species adapted to low light quantity and quality (Reuter and Müller, 1993).

In 2023, nonheterocystous cyanobacteria predominated in the underice horizon–*Planktothrix agardhii* (47–86% of total values) and *Limnothrix redekei* (13–55%) (Fig. 5). According to the functional classification, this species complex belongs to codon S1 (Padisák et al., 2009), which prefers turbid, nutrientrich eutrophic water bodies (like Lake Lunskoe).

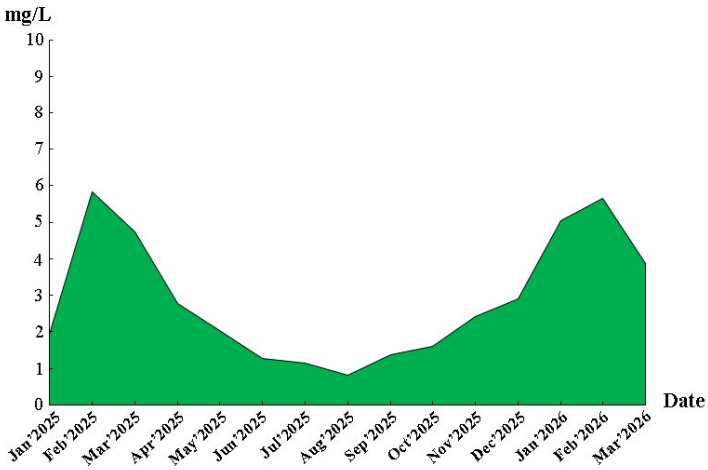


Fig.3. Nitrate (NO_3^-) concentrations in the surface waters of Lake Lunskoye (January 2025–March 2026).

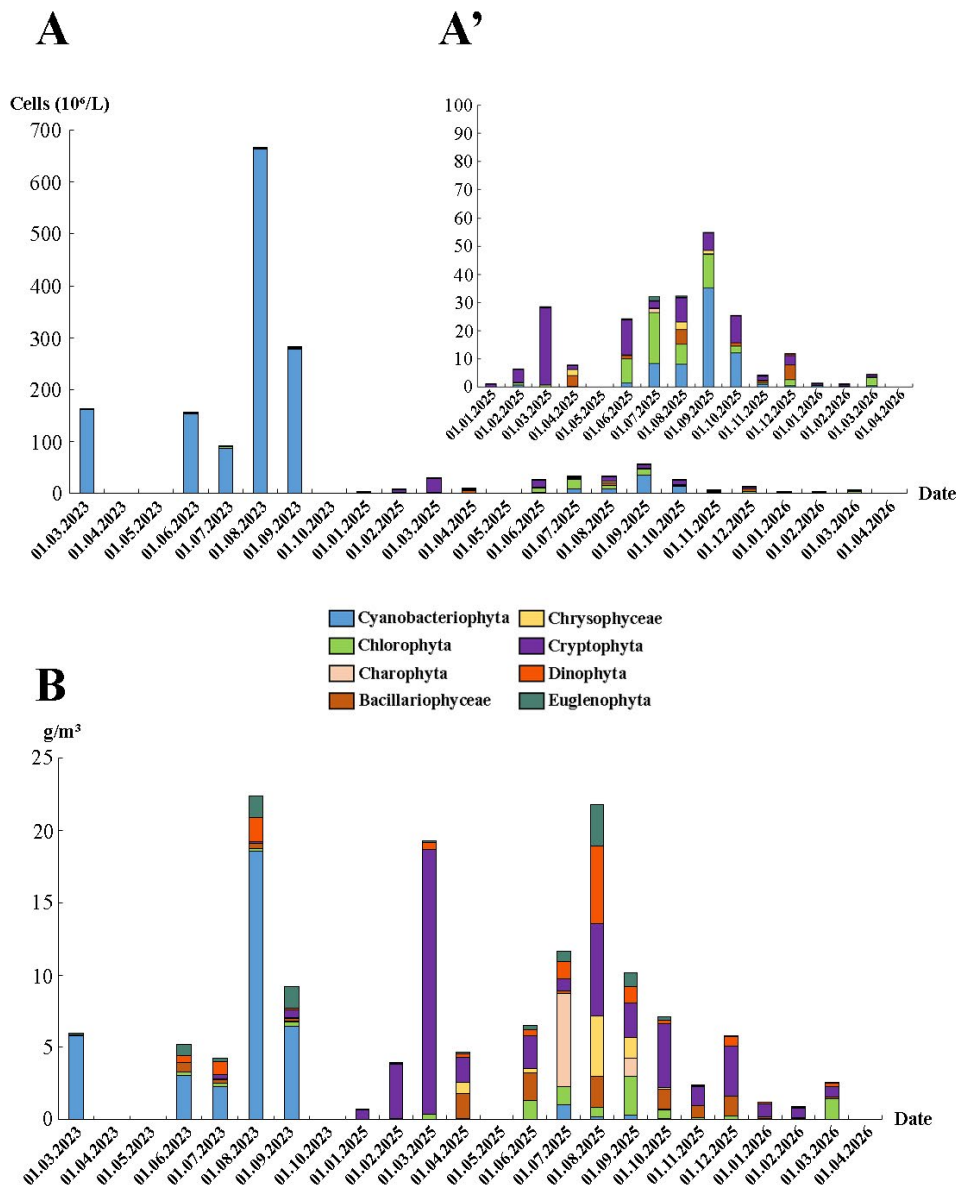


Fig.4. Seasonal dynamics of phytoplankton abundance (A, A'–detailed view for the period of January 2025–February 2026) and biomass (B) in Lake Lunskoe during the study period.

P. agardhii and *L. redekei* are regarded as common bloomforming algae in shallow lakes and reservoirs, including at low temperatures (Rücker et al., 1997; Pełechata et al., 2006; Wejnerowski et al., 2018). Several studies demonstrated the physiological adaptation of *P. agardhii* and *L. redekei* to low light and temperature (Rücker et al., 1997; Bonilla et al., 2012). For instance, the ability of *P. agardhii* to grow under extremely low light (down to 10 μmol photons·m^{-2}·s^{-1}) was demonstrated experimentally (Weenink et al., 2015). Furthermore, various morphological features of *P. agardhii* (increased filament length and width, mucous development in winter, and presence of gas vacuoles) confer resistance of this species to grazing pressure compared to several other cyanobacteria (Wejnerowski et al., 2018). These adaptations not only ensure the survival of these species in winter but also facilitate their mass development in the absence of competition from other organisms. Despite similar adaptations to winter conditions in both representatives, *L. redekei* shows reduced development under conditions of significant mixing and nitrogen limitation, unlike *P. agardhii* (Rücker et al., 1997). In the underice water, the dominance of *P. agardhii* and *L. redekei* occurred in nearly equal proportions, which may indicate the formation of conditions favorable for both species in the lake (absence of pronounced stratification on the one hand, and absence of nitrogen limitation on the other).

During the icefree period of 2023 (June to September), the structure of the phytoplankton community of Lake Lunskoe at the level of major taxa changed little, with cyanobacteria still dominating in the lake plankton (95–98% of total abundance; 40–83% of biomass). The highest biomass values (over 20 g/m^3) were recorded in August–September (Fig. 4). In early summer (June), representatives of the underice plankton (*L. redekei* and *P. agardhii*) remained dominant, along with the diazotrophic cyanobacterium, *Raphidiopsis raciborskii* (Woloszynska) Aguilera & al., which is considered an invasive species (Korneva, 2014). However, its role in the community was minor, with an average biomass of 0.41 ± 0.27 g/m^3 over the study period (Startseva et al., 2026). In August and September, the sole dominant became another representative of codon S1, *Limnothrix planctonica* (Wołoszyńska) Meffert, which accounted for 12.8 to 95.0% of total abundance and 53.3 to 82.7% of total phytoplankton biomass, with dominance frequencies of 58–65%, respectively. Permanent components of the summer plankton, playing a subdominant role, were also phytoflagellates from dinophytes and euglenoids.

Analysis of the longterm phytoplankton succession in Lake Lunskoe (over a 30year period) (Startseva, 2002; Startseva and Okhapkin, 2003; Startseva et al., 2026) confirmed the high trophic status of the water body based on phytoplankton development indicators but demonstrated a shift in dominant complexes from the prevalence of codon H1 (*Aphanizomenon* + *Anabaena*) to codon S1 (*Planktothrix* + *Limnothrix*), which allows Lake Lunskoe to be classified as a "Planktothrixtype" lake.

Using the example of eutrophic lakes in Poland, Lenard et al. (2019) indicated that mild winters contribute to an increase in total biomass, as well as the biomass of cyanobacteria and cryptophyte algae, during the icefree period. However, our expectation that the winter of 2025, characterized by a pronounced "Atlantic" type, frequent thaws, replacement of spring floods by strong winter rain floods, and early ice breakup in water bodies, would promote the active development of cyanobacteria of the "Planktothrix" complex in the lake was not confirmed.

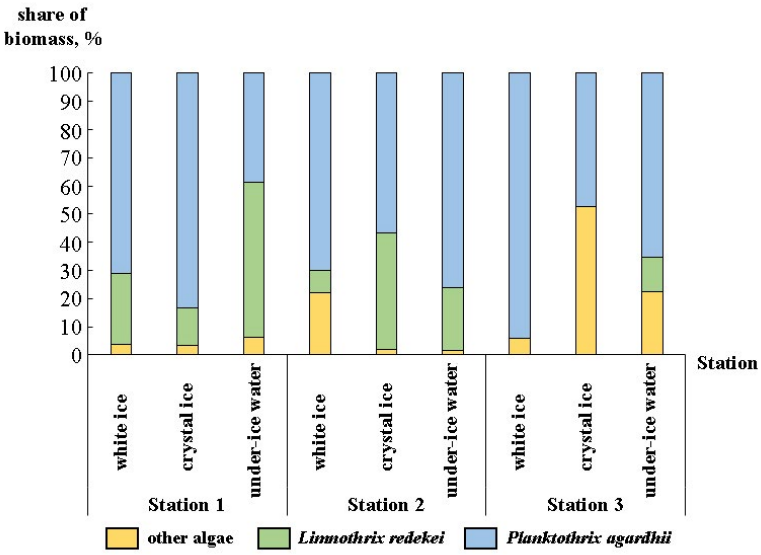


Fig.5. The share of *Planktothrix agardhii* and *Limnothrix redekei* in the biomass of under-ice phytoplankton and ice-associated algae in Lake Lunskoye during March 2023.

In the underice phytoplankton community of Lake Lunskoe, cyanobacteria were practically absent, and mixotrophic cryptophyte algae became absolute dominants (up to 80–97% of biomass) (Fig. 4). The lowest abundance and biomass values were recorded in early January (0.89–0.92 million cells/L and 0.05–0.07 g/m^3, respectively) (Fig. 6). However, after the January flood and complete snowmelt from the ice surface, optimal light conditions were established, which stimulated the growth of underice phytoplankton and led to an early peak. The winter peak of phytoplankton development was comparable to the summer maximum

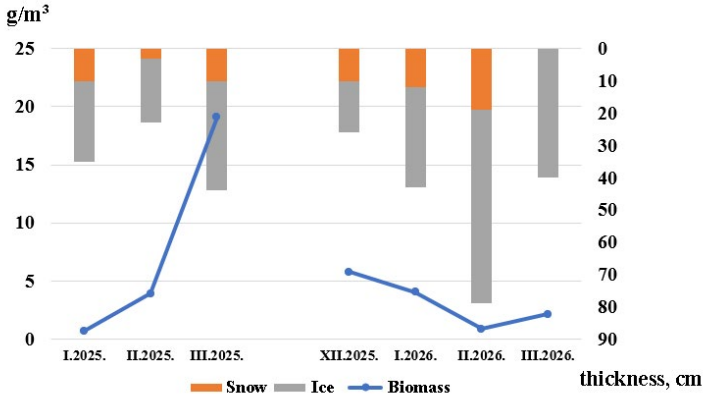


Fig.6. Dynamics of underice phytoplankton biomass, ice and snow thickness in winters of 2025 and 2026.

(Fig. 4). Maximum values were recorded in March–up to 28.17–35.46 million cells/L for abundance and 19.09 and 20.93 g/m^3 for biomass. Dokulil and Herzig (2009) revealed that under conditions of winter "atlantification", the classical spring flood may shift or weaken, giving way to winter rain floods, which alters the input of nutrients and resuspension of sediments, and is of critical importance for the early development of phytoplankton.

Species of the genus *Cryptomonas* and *Komma caudata* determined the basis of the winter dominant complex. Among cyanobacteria, *P. agardhii* and species of the genera *Microcystis* and *Aphanocapsa* were recorded but did not occupy dominant positions. Eukaryotic algae are well known to often outcompete cyanobacteria during winter, but the literature also reports their co-dominance and coexistence under ice, especially in eutrophic and hypertrophic waters with other taxa (Reinl et al., 2023). For example, the simultaneous under-ice "bloom" of centric diatoms (Cyclotella) and non-heterocystous cyanobacteria (P. agardhii and L. redekei) in eutrophic polish lakes (Toporowska et al., 2010) was associated with high phosphorus levels and active water mixing, which first promoted diatom growth and subsequently that of blue-green algae. On the other hand, Salmaso and Cerasino (2012) indicated that warm winter phases of the East Atlantic (EA) atmospheric circulation type can slow down the process of phosphorus release from the hypolimnion and attenuate eutrophication.

In 2023 and 2025, the total phosphorus concentration in the water was similar, so there was no limitation by this parameter. Among the various adaptations of algae to sub-ice conditions, mixotrophy (which occurs in diverse algal groups) was reported to be a key survival strategy under low temperatures and light limitation (Søgaard et al., 2021; Obertegger et al., 2022). The cryptophyte "bloom" in Lake Lunskoye in March 2025 was likely favored by weak snow cover, optimal light availability, and the additional nutrient supply during the flood period. Moreover, the ability of cryptophytes to actively migrate within the water column, owing to their flagella, gave them a competitive edge over other taxa.

The subsequent seasonal succession of phytoplankton development proceeded as follows. In early spring, coldwater chrysophytes (up to 16–20% of total biomass) developed with dominance of species of the genus *Dinobryon*, as well as small centric diatoms of the genus *Cyclotella* (up to 40%) (Fig. 4). During summer, the composition of dominant species was richer. In terms of biomass, coccoid green and charophyte algae (*Oocystis lacustris* Chodat, *Pediastrum*, and *Staurastrum* consequently), chrysophytes (*Mallomonas*), euglenoids (*Trachelomonas*), and dinophytes (*Gymnodinium*, *Peridinium*) stood out. In terms of abundance, cyanobacteria of the genera *Microcystis* and *Dolichospermum* were significant. The summer biomass peak (22 g/m^3) was recorded in August. However, throughout the entire openwater period, cryptophyte algae remained the main component of phytoplankton. Their contribution to biomass decreased only in the summer months to 20–30%, and increased in autumn to 60–70%. Species of the genus *Cryptomonas* and *Komma caudata* determined the dominant species complex. At the end of autumn (November), the role of diatoms and green volvocalean algae increased. The autumn dominant complex (*Cyclotella* sp. and species of the genus *Ulnaria* among diatoms; *Chlamydomonas* among green algae) subsequently became incorporated into the ice structure during its formation.

The phytoplankton biomass level (over 5 g/m^3) during ice formation (third decade of January) corresponded to the eutrophic level. In early 2026, underice phytoplankton was extremely poor (abundance 0.8–4.3 million cells/L; biomass 0.84–2.30 g/m^3) (Fig. 6). The lowest development values were recorded in February, when a substatial layer of white ice formed in the ice cover as a result of extremely high precipitation. In the underice layer, cryptophytes still dominated (up to 79% of biomass). However, in early spring, the active development of green volvocacean algae formed an upward trend in biomass, which might later create a spring bloom peak.

To assess the relationships between hydrochemical parameters and phytoplankton development indicators, Spearman's correlation analysis was performed. Among the abiotic parameters, strong ($\rho > 0.7$) positive correlations with most of the studied groups were observed for temperature and pH (Fig. 7), which may indicate more favorable conditions for development during summer, a period of maximum warming of water masses. Negative correlations with temperature were detected for the proportion of cryptophyte algae, emphasizing the strong cenosisforming role of this group in winter. A negative correlation with almost all phytoplankton groups was demonstrated for nitrates (the highest correlations (-0.81; -0.77; -0.79; and $p < 0.01$) were identified for euglenoids), which may be a sign of nitrogen limitation due to its active consumption. The proportion of cryptophyte algae showed a statistically significant positive correlation with nitrates, which, under conditions of low temperatures in winter and high nitrogen saturation at that time, could use this resource for active growth.

The influence of silicon proved to be selective, demonstrating moderate negative correlations (–0.57 to –0.66) with diatoms. The revealed negative correlation between silicon content and diatom development likely reflects not the limiting role of silicon, but its active consumption by diatoms (for frustule construction) during periods of mass development (Fig. 8). This effect is known as the "silicon paradox" and was described for many lake ecosystems (Reynolds, 2006). A negative relationship was also found between diatoms and water hardness parameters.

Phosphorus concentrations showed weak correlations with phytoplankton. Most correlation coefficients were around zero, and none reached high significance, except for a few values: 0.58 for mineral phosphorus ($p < 0.05$) with diatoms, and 0.64 for organic phosphorus ($p < 0.05$) with cyanobacteria. This may indicate that phosphorus does not limit phytoplankton in this lake.

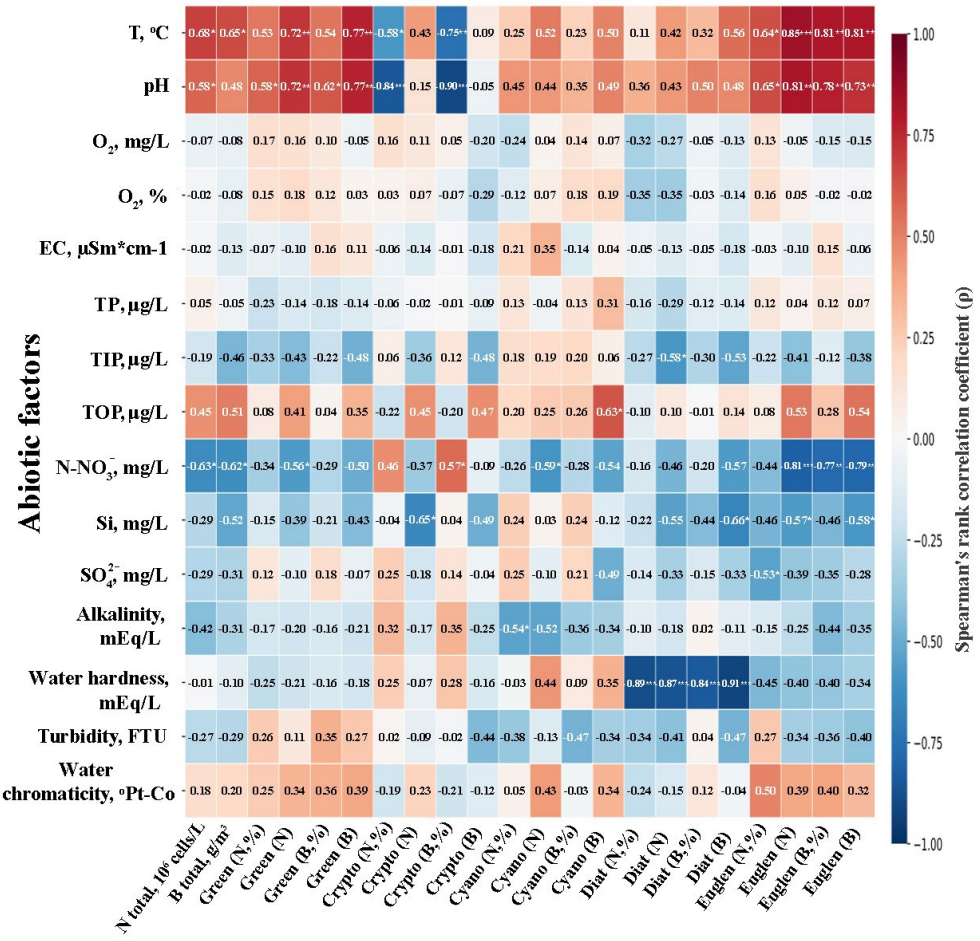


Fig.7. Heat map of Spearman correlations between abiotic environmental factors and phytoplankton characteristics in Lake Lunskoe. **Note:** Chloro, Crypto, Cyano, Bacill, and Euglen denote green algae, cryptophytes, cyanobacteria, diatoms, and euglenophytes, respectively.

3.3. Development of ice algae

Ice is an important specific structural component of the biosphere, which regulates conditions in the water column and provides a wellprotected dynamic ecological niche (Genkal and Komulaynen, 2020). Therefore, in our study, we also investigated the development of algae in the ice column.

The taxonomic diversity of algae inhabiting the ice varied from 4 to 62 taxa. In 2023, mass development of cyanobacteria was observed both in the underice water and within the ice column, with maximum concentrations most frequently recorded in the lower crystalline layer of ice (Table 3), sometimes exceeding those in the underice layer by 1.5–2 times.

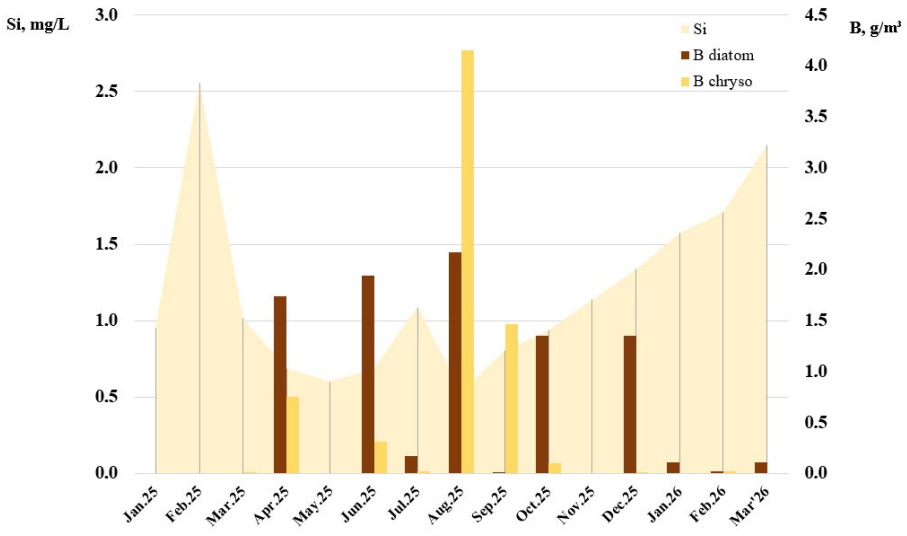


Fig.8. Lake Lunskoe's diatom and chrysophyte biomass (g/m³) and silicon content (mg/L) dynamics.

Table 3. Abundance, biomass, and dominant algal species in different ice fractions of Lake Lunskoe

Parameters	March 2023		March 2025		March 2026	
Ice fraction	white	crystal	white	crystal	white	crystal
Abundance, million cells/L	29.96 ± 9.20	166.92 ± 118.76	2.08 ± 0.71	1.03 ± 0.39	6.05 ± 0.93	1.35 ± 0.26
Biomass, g/m^3	1.20 ± 0.4	7.94 ± 6.59	0.50 ± 0.15	0.26 ± 0.09	3.26 ± 1.1	0.42 ± 0.10
Abundance dominants	*Planktothrix agardhii*, *Limnothrix redekei*	*Planktothrix agardhii*, *Limnothrix redekei*	*Monoraphidium* spp., *Chlamydomonas* spp.	*Monoraphidium* spp., *Chlamydomonas* spp., *Romeria* sp.,	*Chlamydomonas* spp., *Ulnaria* sp.	*Monoraphidium* spp., *Chlamydomonas* spp., *Aphanothece clathrata*, *Cyclotella* sp., *Ulnaria* sp.
Biomass dominants	*Planktothrix agardhii*, *Limnothrix redekei*, *Trachelomonas volvocina*	*Planktothrix agardhii*, *Limnothrix redekei*, *Phacus caudatus*	*Chlamydomonas* spp., *Cryptomonas* spp.	*Cryptomonas* spp., *Chlamydomonas* spp.	*Ulnaria* sp.	*Ulnaria* sp., *Cyclotella* sp.

In contrast to the underice layers, where the *Planktothrix agardhii* + *Limnothrix redekei* complex prevailed, the dominance of *P. agardhii* in the ice was more pronounced (80–90% of total values) (Figs. 5, 9). The thin filaments of *L. redekei* are characterized by sensitivity to mechanical stress (Rücker et al., 1997), which may limit the growth of this cyanobacterium under water crystallization conditions. In addition to cyanobacteria, phytoflagellates from the green, euglenoid, and dinophyte algae were also found in the ice; however, they rarely achieved dominance.

During the mild winter of 2025, algal development in the ice was poor and occurred more actively in the upper snow (white) fraction, which periodically melted during thaws. The abundance of ice algae in the white ice increased sixfold by March (from 0.35 to 2.08 million cells/L), and biomass increased eightfold (from 0.06 to 0.50 g/m^3) (Table 3).

Freshwater ice exists for a much shorter time than sea ice; it is monolithic, its interstices occupy a small volume, and a developed system of pores and channels appears only in spring (Salonen et al., 2009). Apparently, the development of interstices in March, as well as the winter flood, contributed to algal development at the end of the winter period.

Over the three winter months, there was a consistent succession of dominant groups. In January, a heterogeneous community was formed, represented by cryptophytes (30–50% of biomass), green algae (30–40%), and diatoms and chrysophytes (together 20%). In February, in the white ice fraction (after the flood), members of the genus *Chlamydomonas* (up to 30–40% of biomass) developed, whereas in the crystal fraction they were inferior to cryptomonads (their contribution was > 40–50%). Together with green volvocalean algae, coccoid and rodshaped algae of the genus *Monoraphidium* (up to 60%) developed. Such cell morphology provides preferences in ice colonization (Bashenkhaeva et al., 2015). In March, the separation of algae between ice fractions (snow ice with dominance of *Chlamydomonas*; crystal ice with *Cryptomonas*) became more distinct.

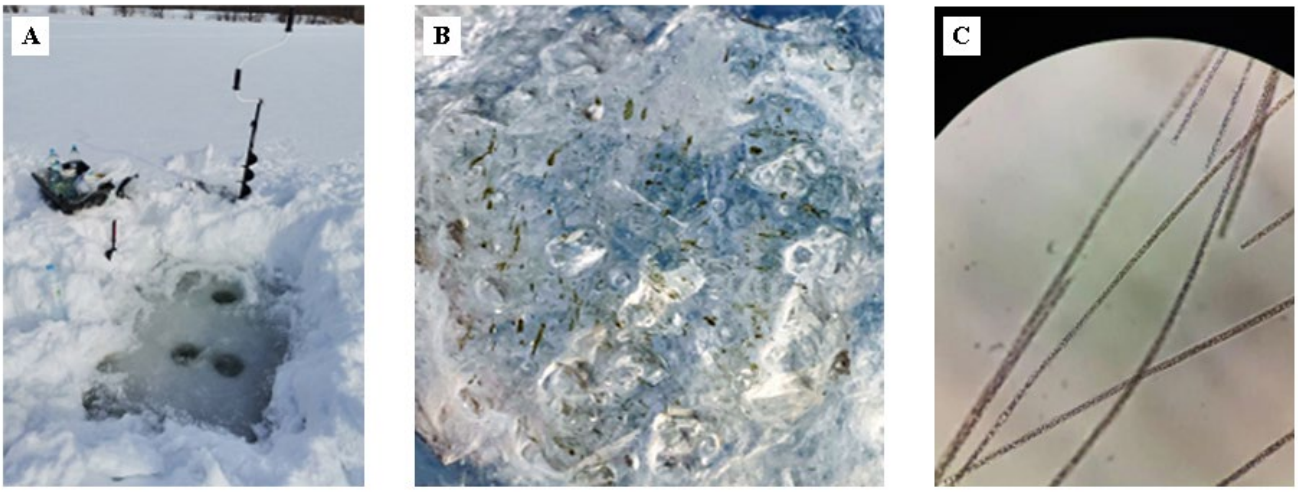


Fig.9. Sampling station on Lake Lunskoe in March 2023 (A), crystalline fraction of the ice core with cyanobacterial inclusions (B), and *Planktothrix agardhii* in microscopic samples (C).

Ice formation in 2025–2026 began in midDecember (thickness of 6 cm), and its separation into fractions started in January. Across the pelagic area, algal abundance in the ice ranged from 1.06 to 2.31 million cells/L; biomass–from 0.25 to 0.67 g/m^3. The "initial" ice algal community, as also reported for other water bodies (Dokulil and Herzig, 2009; Bazhenova and Korzhova, 2014), was formed by representatives of the autumn plankton–cryptophytes and diatoms (species of the genera *Cyclotella*, *Ulnaria*).

Low temperatures and the formation of a thick snow cover due to anomalously high precipitation limited active algal growth in the winter of 2026. In January, biomass did not exceed 0.6 g/m^3. At that time, the basis of the cryophyton was diatoms, whose share in crystal ice reached 70% of biomass and 80% of abundance, and in white ice–39% and 59%, respectively. Small centric diatoms *Cyclotella* sp. and large pennate diatoms of the genus *Ulnaria* were the dominant species. Under the cold January conditions, diatoms, possessing high cold tolerance and the ability to efficiently harvest light at low irradiance, acted as a pioneer community, forming the basis of the ice algal assemblage, which is consistent with the literature data (Obertegger et al., 2022; Zhang et al., 2025). In the white (snow) ice fraction, where the light regime was most limited, the community structure proved to be more balanced. Along with diatoms (39% of biomass), there were various groups of phytoflagellates–cryptophytes, primarily *Cryptomonas* cf. *curvata* Ehrenberg (22.5% of biomass), dinophytes (*Gymnodinium simile* Skuja–19.0% of biomass), and green algae (*Chlamydomonas* sp.–10.6% of biomass).

In the following months, algal biomass increased to >3 g/m^3 in the white fraction (Table 4) in March. The cryophyton became more diverse, with the number of species per sample increasing to 50–55 taxa. At the same time, diatoms still determined the dominant species complex, as well as phytoflagellates–the white fraction.

The nonparametric Kruskal–Wallis test assessed interannual differences in cryophyton biomass. There were significant differences between years for both white ($H = 10.74$; $p = 0.005$) and crystal ice ($H = 6.29$; $p = 0.043$). Dunn's pairwise comparisons (Dunn, 1961) demonstrated the main difference between 2023 and 2025 ($p < 0.05$ for both ice types), indicating a decrease in biomass in 2025. Within each year, there were no differences between crystal and white ice ($p > 0.05$ in all cases). However, the vertical discreteness in algal distribution within the ice column found in our study was also reported in other freshwater lakes, e.g., urban lakes of Petrozavodsk, Karelia (Slastina et al., 2011), with maximum algal densities in both the upper and lower ice core sections.

4. Conclusions

The conducted studies of phytoplankton in the floodplain Lake Lunskoye during years with different winter phenology (2023, 2025, and 2026) demonstrated the ambiguous responses of algal communities to climatic anomalies. Despite the absence of a universal succession scheme for underice phytoplankton across all winter regime types, the icecovered period plays a significant role in the functioning of the lake ecosystem. Winter phenology is a complex process depending on a combination of factors: light conditions determined by ice transparency and snow depth, gas regime, and nutrient availability. The winter plankton composition is represented by a complex of species possessing similar adaptations to extreme conditions (low temperature and light deficiency), allowing them to survive under such conditions and, in the absence of competition, to form bloom outbreaks. In the severe and snowy winter of 2023, we observed coldwater cyanobacterial blooms of the S1 complex (*Planktothrix agardhii* and *Limnothrix redekei*). The "atlantification" of winter (exemplified by 2025, with a positive East Atlantic atmospheric circulation index and little snow cover) does not always stimulate cyanobacterial blooms and may trigger a winter flood peak of mixotrophic cryptomonads (*Cryptomonas* spp., *Komma caudata*), reaching up to 20 g/m^3, comparable in biomass to summer maxima. In years with stable snow cover and low light transmittance (2026), the productivity of underice phytoplankton was minimal.

Ice cover acts not only as a physical barrier but also as a filter of the light regime and as a specific ecological niche for algal development. Within the ice structure, a seasonal succession occurs: from the "preceding" heterogeneous community of autumn plankton at the beginning of ice cover to the formation of distinct dominant complexes by the end of winter. Ice algae are characterized by high interannual variability and seasonal succession. In mild winters, in contrast to cold ones, stratification of communities across ice horizons occurs, which is caused by the appearance of an aquatic environment in the upper (snow) fractions during floods, where flagellate forms (green algae of the genus *Chlamydomonas*) actively develop.

Acknowledgements

The study was supported by a grant from the Russian Science Foundation No. 252400573.

Conflict of interest

The authors declare no conflicts of interest

References

Alekin O.A. 1946. On the issue of chemical classification of natural waters. Trudy NIU GUGMS. IV (32). L.: Gidrometeoizdat. (in Russian)

Afonina E.Yu., Tashlikova N.A., Tsybekmitova G.Ts. et al. 2017. Algae and invertebrates in freshwater ice (Zabaikalsky krai). Kriosfera Zemli [Earth's Cryosphere] 21(5): 60–68. DOI: 10.21782/EC1560-7496-2017-5(60-68) (in Russian)

Babanazarova O.V., Karmayer R., Sidelev S.I. et al. 2011. Phytoplankton structure and microcystin content in the highly eutrophic Lake Nero. Vodnye Resursy [Water Resources] 38(2): 223–231. (in Russian)

Babanazarova O., Sidelev S., Schischeleva S. 2013. The structure of winter phytoplankton in Lake Nero, Russia, a hypertrophic lake dominated by Planktothrix-like cyanobacteria. Aquatic Biosystems 9: 18. DOI: 10.1186/2046-9063-9-18

Bashenkhaeva M.V., Zakharova Yu.R., Petrova D.P. et al. 2015. Sub-ice microalgal and bacterial communities in freshwater Lake Baikal, Russia. Microbial Ecology 70(3): 751–765. DOI: 10.1007/s00248-015-0619-2

Bazhenova O.P., Korzhova L.V. 2014. Cryophyton of Lake Kalach (Omsk region). Sibirskii Ekologicheskii Zhurnal [Siberian Journal of Ecology] 1: 61–68. (in Russian)

Bogatov V.V., Fedorovskiy A.S. 2016. Freshwater ecosystems of the southern region of the russian far east are undergoing extreme environmental change. Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems 417: 34. DOI: 10.1051/kmae/2016021

Bonilla S., Aubriot L., Soares M.C.S. et al. 2012. What drives the distribution of the bloom-forming cyanobacteria *Planktothrix agardhii* and *Cylindrospermopsis raciborskii*? FEMS Microbiology Ecology 79(3): 594–607. DOI: 10.1111/j.1574-6941.2011.01242.x

Carey C.C., Ibelings B.W., Hoffmann E.P. et al. 2012. Ecophysiological adaptations that favour freshwater cyanobacteria in a changing climate. Water Research 46: 1394–1407.

Cavaliere E., Fournier I.B., Hazuková V. et al. 2021. The lake ice continuum concept: influence of winter conditions on energy and ecosystem dynamics. Journal of Geophysical Research: Biogeosciences 126(11): e2020JG006165. DOI: 10.1029/2020JG006165

Codd G.A., Morrison L.F., Metcalf J.S. 2005. Cyanobacterial toxins: Risk management for health protection. Toxicology and Applied Pharmacology 203: 264–272.

Dokulil M.T. 2014. Predicting summer surface water temperatures for large Austrian lakes in 2050 under climate change scenarios. Hydrobiologia 731: 19–29.

Dokulil M.T., Herzig A. 2009. An analysis of long-term winter data on phytoplankton and zooplankton in Neusiedler See, a shallow temperate lake, Austria. Aquatic Ecology 43(3): 715–725.

Downing J.A., Watson S.B., McCauley E. 2001. Predicting cyanobacteria dominance in lakes. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 58(10): 1905–1908.

Dunn O.J. 1961. Multiple comparisons among means. Journal of the American Statistical Association 56(293): 52–64.

Gelashvili D.B., Okhapkin A.G., Doronina A.I. et al. 2005. Ecological state of water bodies of Nizhny Novgorod. Nizhny Novgorod: N.N. Novgorod State University Publishing House. (in Russian)

Genkal S.I., Komulaynen S.F. 2020. Diatom algae of ice and under-ice water of some lakes in Karelia. Botanicheskii Zhurnal [Botanical Journal] 105(2): 159–168. (in Russian)

Golubkov S.M. 2021. Influence of climatic fluctuations on the structure and functioning of ecosystems of continental water bodies. Sibirskii Ekologicheskii Zhurnal [Siberian Ecological Journal] 1: 1–12. (in Russian)

Guiry M.D., Guiry G.M. 2026. AlgaeBase. World-Wide Electronic Publication, National University of Ireland, Galway. URL: http://www.algaebase.org

Hampton S.E. et al. 2017. Ecology under lake ice. Ecology Letters 20(1): 98–111.

Ho J.C., Michalak A.M. 2017. Phytoplankton blooms in Lake Erie impacted by both long-term and springtime phosphorus loading. Journal of Great Lakes Research 43(3): 221–228.

Huertas I.E., Rouco M., López-Rodas V. et al. 2011. Warming will affect phytoplankton differently: evidence through a mechanistic approach. Proceedings of the Royal Society B 278: 3534–3543.

Kitaev L.M. 2014. Variability of ice phenomena characteristics in the Middle Volga basin. In: Proceedings of the VIII Conference “Dynamics and Thermal Regime of Rivers, Reservoirs and Coastal Zone of Seas”. Moscow: IVP RAN, pp. 411–423. (in Russian)

Kitaev S.P. 1984. Ecological foundations of bioproductivity of lakes in different natural zones. Moscow: Nauka. (in Russian)

Korneva L.G. 2014. Invasions of alien planktonic algae in fresh waters of the Holarctic (Review). Rossiiskii Zhurnal Biologicheskikh Invazii [Russian Journal of Biological Invasions] 1: 9–37. (in Russian)

Lenard T., Ejankowski W., Poniewozik M. 2019. Responses of phytoplankton communities in selected eutrophic lakes to variable weather conditions. Water 11: 1207. DOI: 10.3390/w11061207

Macário I.P.E., Castro B.B., Nunes M.I.S. et al. 2017. Stepwise strategy for monitoring toxic cyanobacterial blooms in lentic water bodies. Environmental Monitoring and Assessment 189(12): 620. DOI: 10.1007/s10661-017-6292-9

Nõges P., Adrian R., Anneville O. et al. 2010. The impact of variations in the climate on seasonal dynamics of phytoplankton. In: George D.G. (Ed.). The Impact of Climate Change on European Lakes. Aquatic Ecology Series 4. London: Springer Science + Business Media B.V., pp. 253–274.

Obertegger U., Flaim G., Corradini S. et al. 2022. Multiannual comparisons of summer and underice phytoplankton communities of a mountain lake. Hydrobiologia 849: 4613–4635. DOI: 10.1007/s10750-022-04952-3

Okhapkin A.G., Sharagina E.M., Kulizin P.V. et al. 2022. Phytoplankton Community Structure in Highly-Mineralized Small Gypsum Karst Lake (Russia). Microorganisms 10: 386.

Padisák J., Crossetti L.O., Naselli-Flores L. 2009. Use and misuse in the application of the phytoplankton functional classification: a critical review with updates. Hydrobiologia 621: 1–19.

Pełechata A., Pełechaty M., Pukacz A. 2006. Cyanoprokaryota of shallow lakes of Lubuskie Lakeland (mid-western Poland). Oceanological and Hydrobiological Studies 35(1): 3–14.

Reinl K.L., Harris T.D., North R.L. et al. 2023. Blooms also like it cold. Limnology and Oceanography Letters 8(4): 546–564. DOI: 10.1002/lol2.10316

Reuter W., Müller C. 1993. New trends in photobiology: Adaptation of the photosynthetic apparatus of cyanobacteria to light and CO2. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology 21: 3–27. DOI: 10.1016/1011-1344(93)80159-7

Reynolds C.S. 2006. The Ecology of Phytoplankton. Cambridge: Cambridge University Press.

Rücker J., Wiedner C., Zippel P. 1997. Factors controlling the dominance of Planktothrix agardhii and Limnothrix redekei in eutrophic shallow lakes. Hydrobiologia 342: 107–115.

Salmaso N., Cerasino L. 2012. Long-term trends and fine year-to-year tuning of phytoplankton in large lakes are ruled by eutrophication and atmospheric modes of variability. In: Phytoplankton responses to human impacts at different scales. Dordrecht: Springer Netherlands, pp. 17–28.

Salonen K., Leppäranta M., Viljanen M. et al. 2009. Perspectives in winter limnology: closing the annual cycle of freezing lakes. Aquatic Ecology 43: 609–616. DOI: 10.1007/s10452-009-9278-z

Sharagina E.M., Kulizin P.V., Startseva N.A. et al. 2024. Dominant species and functional complexes of phytoplankton in some unique karst lakes of the Middle Volga basin. Limnology and Freshwater Biology 3: 195–220. DOI: 10.31951/2658-3518-2024-A-3-195

Sharma S., Blagrave K., Watson S.R. et al. 2020. Increased winter drownings in ice-covered regions with warmer winters. PLoS ONE 15(11): e0241222. DOI: 10.1371/journal.

pone.0241222

Slastina Yu.L., Komulainen S.F., Potakhin M.S. et al. 2011. Structure of cryophyton in lakes of the city of Petrozavodsk. Trudy Karelskogo Nauchnogo Tsentra RAN [Proceedings of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences] 4: 138–141. (in Russian)

Snitko L.V. 2006. Dynamics of mass species of phytoplankton in Lake Bolshoy Kisegach (Southern Urals). Izvestiya Chelyabinskogo Nauchnogo Tsentra UrO RAN [Proceedings of the Chelyabinsk Scientific Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences] 3: 6–10. (in Russian)

Søgaard D.H., Sorrell B.K., Sejr M.K. et al. 2021. An under-ice bloom of mixotrophic haptophytes in low nutrient and freshwater-influenced Arctic waters. Scientific Reports 11: 2915. DOI: 10.1038/s41598-021-82001-y

Startseva N.A. 2002. Composition and structure of phytoplankton of small water bodies of urbanized landscape: on the example of Nizhny Novgorod. Cand. Sc. Dissertation, Nizhny Novgorod, Russia. (in Russian)

Startseva N.A., Okhapkin A.G. 2003. Composition and structure of phytoplankton of some floodplain lakes of cultural landscape (on the example of Nizhny Novgorod). Biology of Inland Waters 4: 35–42. (in Russian)

Startseva N.A., Gavrilko D.E., Okhapkin A.G. et al. 2026. Cyanobacteria in algocenoses of a small water body of an urbanized landscape (on the example of Lake Lunskoe, Nizhny Novgorod). Biology of Inland Waters 19(3): 490–502. (in Russian)

Tashlykova N.A. 2012. Algae of ice communities of Lake Arakhley. Vestnik KrasGAU [Bulletin of Krasnoyarsk State Agrarian University] 1: 87–90. (in Russian)

Thompson R., Kamenik C., Schmidt R. 2005. Ultra-sensitive Alpine lakes and climate change. Journal of Limnology 64(2): 139–152.

Toporowska M., Pawlik-Skowrońska B., Krupa D. et al. 2010. Winter versus summer blooming of phytoplankton in a shallow lake: effect of hypertrophic conditions. Polish Journal of Ecology 58(1): 3–12.

Vodeneeva E., Pichugina Y., Zhurova D. et al. 2024. Epiplastic Algal Communities on Different Types of Polymers in Freshwater Bodies: A Short-Term Experiment in Karst Lakes. Water 16(22): 3288. DOI: 10.3390/w16223288

Vodeneeva E.L., Kulizin P.V. 2019. Algae of the Mordovian Reserve (annotated list of species) Moscow: Flora and Fauna of Nature Reserves. 134. (in Russian)

Vodeneeva E.L., Okhapkin A.G., Genkal S.I. et al. 2020. Composition, structure and distribution of the phytoplankton of highly mineralized karst lake. Inland Water Biology 13: 576–584. DOI: 10.1134/S1995082920040136

Weenink E.F.J., Luimstra V.M., Schuurmans J.M. et al. 2015. Combatting cyanobacteria with hydrogen peroxide: a laboratory study on the consequences for phytoplankton community and diversity. Frontiers in Microbiology 6:714. DOI: 10.3389/fmicb.2015.00714

Wejnerowski Ł., Rzymski P., Kokociński M. et al. 2018. The structure and toxicity of winter cyanobacterial bloom in a eutrophic lake of the temperate zone. Ecotoxicology 27: 752–760.

Zhang X., Wang Y., Li Z. et al. 2025. Substantial role of underice limnological processes in diatom dynamics in the alpine lakes of the Chinese Loess Plateau. Ecosphere 16(2): e70199. DOI: 10.1002/ecs2.70199

Оригинальная статья

Развитие фитопланктона пойменного водоема в зимний и безледный периоды в условиях разной фенологии зимы (озеро Лунское, бассейн Средней Волги, Россия)

Воденеева Е.Л.[1]*, Шарагина Е.М.[1], Журова Д.А.[1,2], Старцева Н.А.[1], Кулизин П.В.[1]

[1] *Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского (ННГУ), пр. Гагарина, 23, Нижний Новгород, 603950, Россия*
[2] *Институт водных проблем Российской академии наук, ул. Губкина, д. 3, Москва, 119333, Россия*

АННОТАЦИЯ. Изменение климата приводит к трансформации зимнего режима водоемов — сокращению ледостава, увеличению числа оттепелей и зимних паводков, что требует переоценки роли подледного периода в жизни фитопланктона. Особенно малоизученными остаются пойменные водоемы, реакция которых на фенологические аномалии зимы может быть непредсказуемой. В настоящей работе проведен анализ сезонной динамики фитопланктона малого эвтрофного озера-старицы Лунское (бассейн Средней Волги) в годы с разной фенологией зимы (2023, 2025–2026 гг.). Водоем испытывает сильную антропогенную нагрузку и регулярные вспышки «цветения» цианобактериями. Показано, что зима является активным период в развитии фитопланктона. В холодную снежную зиму 2023 г. зафиксировано подледное «цветение» (биомасса до 11,8 г/м^3), безгетероцистных цианобактерий *Planktothrix agardhii* (Gom.) Anagn. et Kom. (до 86% общих значений) и *Limnothrix redekei* (Van Goor) Meffert (до 55%), которые оставались в доминантах и в летний сезон. Массовое развитие этих водорослей происходило как в подледной воде, так и в толще льда (особенно в кристаллической части), превышая показатели развития в подледном горизонте до 2 раз. В аномально теплую «атлантическую» зиму 2025 г. доминировали миксотрофные криптомонады (*Cryptomonas* spp., *Komma caudata* (Geitler) D.R.A. Hill, которые создавали зимний пик биомассы до 21 г/м^3, сопоставимый с данными летнего сезона. В схожую по фенологии с 2023 г. зиму 2026 г. подледный фитопланктон имел диатомовый характер. Во льду развитие водорослей было слабым, которое более активно шло в верхней снеговой фракции, периодически таявшей в период оттепелей. В структуре льда выявлена сезонная сукцессия: от гетерогенного «предшествующего» сообщества к монодоминированию зеленых водорослей в непрозрачном льду или криптофитовому комплексу – в прозрачном, либо полному доминированию диатомей. Полученные результаты опровергают упрощенное представление о стимуляции цианобактерий любым потеплением и демонстрируют, что «атлантизация» зимы может приводить к замещению цианобактерий криптомонадами.

Ключевые слова: фитопланктон, водоросли льда, подледные сообщества, цианобактерии, криптомонады, зимняя фенология, бассейн Средней Волги

Для цитирования: Воденеева Е.Л., Шарагина Е.М., Журова Д.А., Старцева Н.А., Кулизин П.В. Развитие фитопланктона пойменного водоема в зимний и безледный периоды в условиях разной фенологии зимы (озеро Лунское, бассейн Средней Волги, Россия) // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - С. 632-658. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-632

1. Введение

Климатические колебания относятся к важнейшим факторам, вызывающим изменения в разных экосистемах, а также в структурной организации заселяющих их сообществ (Голубков, 2021; Bogatov and Fedorovskiy, 2016). Большинство климатических моделей предсказывают значительное

*Автор для переписки. Адрес e-mail: vodeneeva@mail.ru (E.L. Vodeneeva)

Поступила: 03 июля 2026;
Принята после доработки: 24 августа 2026;
Опубликована online: 28 августа 2026

© Автор(ы) 2026. Эта работа распространяется под международной лицензией Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.

увеличение температуры, особенно в средних и высоких широтах. Согласно прогнозам, к концу XXI века температура поверхности моря может повыситься на 1,1–6,4˚С, а крупных пресноводных водоемов – до 10˚С (Thompson et al., 2005; Huertas et al., 2011). Эти события неизбежно повлекут за собой трансформацию гидрологического режима, стратификации водных масс и биогеохимических циклов, что в конечном итоге приведет к сдвигам в структуре пищевых сетей и продуктивности экосистем (Salmaso and Cerasino, 2012).

Изменение климата часто вызывает развитие аномальных погодных условий. Отмечается, что в озерах Северной Европы идет тенденция к сокращению периода ледостава (Sharma et al., 2020) и более позднему сроку становления льда. Возрастает число аномально теплых зим, что связывают с процессами «атлантизации» – усиления переноса влажных и теплых воздушных масс с Атлантики (Salmaso and Cerasino, 2012). Повышение зимних температур и обильные осадки в виде дождя отражаются на зимне-весенней динамике поверхностного стока. Возрастание поверхностного стока приводит к росту поступления биогенных веществ в водоемы и риску их дальнейшего эвтрофирования (Голубков, 2021).

Фитопланктон как основой компонент водных пищевых сетей, обеспечивающий около половины глобальной первичной продукции, может быть индикатором и “предвестником” климатических изменений (Huertas et al., 2011). Исследование способности фитопланктона адаптироваться к прогнозируемому потеплению стало актуальной проблемой. Однако, учитывая полифилетическую сложность сообщества фитопланктона, ожидаются различные реакции и сценарии их развития на климатические аномалии.

Одними из наиболее ожидаемых последствий повышения температуры и сокращения периода ледостава в озерах часто рассматривается цианобактериальное «цветение» (Снитько, 2006; Бабаназарова и др., 2011; Downing et al., 2001; Ho and Michalak, 2017; Macário et al., 2017) и более ранние сроки пиков его развития. Высокая экологическая пластичность цианобактерий, их морфологические (наличие газовых вакуолей, формирование слизистых колоний) и физиологические особенности (использование широкого светового спектра для фотосинтеза, низкая восприимчивость к пастбищному давлению, продуцирование токсинов и др.) (Codd et al., 2005; Carey et al., 2012) дают этим фототрофным прокариотам конкурентное преимущество в теплое время по сравнению с другими представителями фитопланктона (Lenard et al., 2019). В более холодные месяцы года в озерах умеренной зоны роль цианобактерий может снижаться, тогда как представителей диатомовых водорослей, динофитовых и криптомонад возрастать (Nõges et al., 2010). Однако современные исследования убедительно демонстрируют, что такая точка зрения является упрощенной. Так, в обзорной статье *«Blooms also like it cold»* (Reinl et al., 2023) обобщены данные о более тридцати случаях «цветения» цианобактерий при температурах воды ниже 15˚С. Авторы выделяют три типа таких «цветений»: инициированные и сохраняющиеся в холоде; металимнические (вынесенные на поверхность из глубинных слоев); а также остаточные — начавшиеся в теплую погоду и сохранившиеся до наступления холодов.

В последнее время широко обсуждается роль зимнего сезона в формировании сообществ фитопланктона в озерах на весь последующий год. Летние и зимние условия окружающей среды различны, особенно в отношении температуры и освещенности, и эти различия частично отражаются в параметрах водорослей (Obertegger et al., 2022). При сравнении лета с подледным периодом общая биомасса фитопланктона и хлорофилл-а (chl-*a*) как показателя биомассы фитопланктона обычно ниже зимой, чем летом, хотя существуют исключения (Dokulil, 2014; Hampton et al., 2017). Кроме того, зимой обычно преобладают мелкие водоросли ($<$ 100 мкм^3) из-за меньшего перемешивания по сравнению с летом (Dokulil, 2014). Однако крупномасштабный анализ данных из более чем 100 озер не выявил общих тенденций в составе сообщества фитопланктона от лета к зиме, за исключением тенденции к большему количеству цианобактерий и меньшему количеству зеленых летом, чем зимой (Hampton et al., 2017). Анализ колебаний климатических условий зим показал (Lenard et al., 2019), что холодные или мягкие зимы отражаются как на абиотических показателях среды, так и на характеристиках фитопланктона озер в период его вегетации. Содержание растворимого и общего азота, концентрация хлорофилла *a*, общая биомасса фитопланктона, биомасса цианобактерий и криптофитовых водорослей были значительно выше в вегетационные периоды после мягкой зимы, тогда как содержание растворимого и общего фосфора, а также биоразнообразие фитопланктона в эти годы могли быть значительно ниже. Многолетние наблюдения на мелководном озере в Австрии показали (Dokulil and Herzig, 2009), что средняя зимняя биомасса фитопланктона увеличилась на порядок за последние десятилетия, а состав сообщества существенно сдвинулся в сторону цианобактерий. При этом развитие планктона зимой критически зависит от продолжительности ледового покрова, которая, в свою очередь, связана с климатическими сигналами (такими как Североатлантическое колебание), и от биомассы, накопленной в предыдущую осень (Dokulil and Herzig, 2009). Таким образом, потепление климата в сочетании с частыми мягкими зимами может способствовать массовому развитию фитопланктона, что может косвенно сказаться на биоразнообразии альгоценозов в озерах умеренного пояса.

Одним из ключевых факторов, регулирующих развитие фитопланктона зимой, является развитие ледового покрова. Проникновение света, важного для фототрофов фактора, может изменяться в зависимости от качества и количества льда, как это описано в концепции ледового континуума озер (Cavaliere et al., 2021). Показано (Reinl et al., 2023), что в значительной степени увеличение зимней

биомассы водорослей было связано либо с более мягкими зимами, либо с более короткой продолжительностью ледового покрова, либо с лучшими условиями освещения под прозрачным льдом. С другой стороны, лед – это особая среда для существования живых организмов, практически лишенная питательных веществ, имеющая температуру ниже нуля градусов и ограничивающую способность организмов к передвижению. Биота льда пресноводных водоемов изучена крайне слабо. Пресноводный лед существует значительно более короткое время, чем морской, представляет собой монолитное образование со слабо развитой системой каналов (Salonen et al., 2009). Поэтому во льду присутствуют только вмерзшие в него водоросли (анабиоценоз), которые возвращаются к активной жизни лишь после таяния льда (Афонина и др., 2017). Показано, что состав водорослей льда обусловлен прежде всего составом фитопланктона, из которого он формировался (Баженова и Коржова, 2014), однако не все виды способны вынести стрессовые условия длительного обитания во льду, в связи с чем криофитон может приобретать специфические черты (Сластина и др., 2011; Ташлыкова, 2012; Баженова и Коржова, 2014). В связи с этим при проведении мониторинговых работ наряду с изучением фитопланктона необходимо исследование сообщества льда, т.к. происходящие здесь процессы могут быть не менее существенными в жизни водоемов.

В последние годы бассейн Средней Волги характеризуется высокой межгодовой изменчивостью зимних условий (Китаев, 2014), поэтому оценка влияния типа зимы (с выраженной «атлантизацией» или классическая) на сезонное развитие фитопланктона озер, испытывающих регулярное цианобактериальное «цветение», остается крайне актуальной задачей. Цель работы – оценка сезонной и межгодовой динамики фитопланктона и водорослей льда в пойменном эвтрофном озере Лунское (старица р. Волги), расположенном на урбанизированном водосборе, в годы с различным типом зимы – с ярко выраженной «атлантизацией» (аномально теплая с зимним паводком 2024–2025 гг.) и с традиционным зимним режимом (2022–2023 и 2025–2026 гг.). Понимание выявленных закономерностей необходимо для прогнозирования рисков «цветения» воды, качества водных ресурсов и устойчивости экосистем в условиях климатической нестабильности.

2. Материалы и методы

Пойменное озеро Лунское представляет собой отсоединившуюся старицу р. Волги. Озеро расположено в черте крупного мегаполиса Нижнего Новгорода (56˚23′23,93″N, 43˚47′56,60″E). По морфометрическим характеристикам оз. Лунское относится к категории малых – очень малых водоемов. Площадь водоема составляет 0,37 км^2, длина 1188 м, максимальная ширина 438 м, средняя глубина 2,8 м, максимальная – 7,0 м. Грунты дна песчано-илистые. В озеро впадают несколько ручьев, а от его восточной оконечности отходит протока, заключенная в стальную трубу (Старцева и др., 2026). Озеро имеет гидрокарбонатный класс вод Ca-Na + K группы I типа, по уровню pH является олигощелочным, преимущественно средней минерализации, богато биогенными элементами (Гелашвили и др., 2005). Физико-химические параметры воды и уровень количественного развития фитопланктона характеризуют водоем как высокоэвтрофный (Старцева и Охапкин, 2003; Старцева и др., 2026). Водоем активно используется жителями города в рекреационных целях. На протяжении многих лет в озере регистрируется цианобактериальное «цветение» воды в летний сезон.

Исследования проводились в 2023, 2025–2026 годы. В период открытой воды пробы фитопланктона отбирали с пелагической части водоема (ст. 1–3) (Рис. 1) с помощью батометра Руттнера объемом 1 литр, во время ледостава – зачерпыванием из поверхностных горизонтов. В 2023 году отбор проводился один раз в месяц с июня по сентябрь и разово в марте из подледной воды и льда. В 2025–2026 гг. проводились регулярные ежемесячные съемки с января 2025 г. по март 2026 г. Отбор проб льда для последующего анализа криофитона осуществляли с помощью кольцевого ледобура диаметром 150 мм. Керны льда предварительно распиливали на фракции – снеговой (белый) и прозрачный (кристаллический). После чего оттаивали при комнатной температуре в плотно закрытых контейнерах. Объем оттаявшей воды составлял 0,5–0,8 л.

Консервацию альгологического материала (пробы объемом 0,5 л) проводили 40% йодно-формалиновым фиксатором. Одновременно со взятием проб проводили измерения температуры (T), электропроводности (EC), pH, толщины ледового и снежного покровов, в безледный период – прозрачности воды (по диску Секки). Проводился отбор проб на гидрохимический анализ (кроме периода июнь-сентябрь 2025 г.).

Концентрацию проб фитопланктона осуществляли методом прямой фильтрации через мембранные фильтры марки «Vladipor» с диаметром пор 1,5–3,0 мкм. Микроскопическую обработку

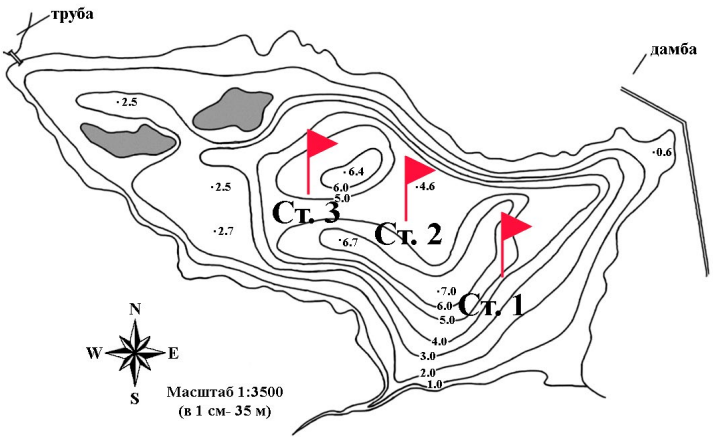


Рис.1. Карта-схема озера Лунское со станциями отбора проб фитопланктона.

проб проводили с помощью световых микроскопов MeijiTechno 4200L (Япония), Olympus (CX31). Анализировались такие биотические параметры как удельное видовое богатство (число видов в пробе), общие численность ($N_{общ}$, млн кл./л) и биомасса ($B_{общ}$, г/м^3), доля основных таксономических групп водорослей в численности (N, %) и биомассе (B, %), состав доминирующих видов. Подробное описание процедуры подготовки проб к микроскопированию и подсчету численности и биомассы водорослей приводится в наших предыдущих работах (Vodeneeva et al., 2020; Okhapkin et al., 2022; Sharagina et al., 2024), наиболее полный перечень руководств, использованных при идентификации видов – в работе Воденеевой и Кулизина (2019). Названия таксонов приведены с учетом современных номенклатурных изменений, представленных на сайте Algaebase (Guiry and Guiry, 2026). К доминирующим относили виды фитопланктона с биомассой ≥ 10% от суммарных значений.

В лаборатории проводили гидрохимический анализ воды. Определены общий ($P_{общ}$), минеральный ($P_{мин}$) и органический фосфор ($P_{орг}$), концентрации нитритов (NO_2^-), нитратов (NO_3^-), кремния (Si), важнейших ионов (гидрокарбонаты (HCO_3^-), сульфаты (SO_4^{2-}), кальций Ca^{2+}, магний Mg^{2+}), а также показатели жесткости, мутности и цветности. Подробное описание процедуры определения гидрохимических параметров приведено ранее (Vodeneeva et al., 2024). В качестве характеристики погодных условий рассматривали индекс атмосферной циркуляции: восточно-атлантического (EA) колебания. Данные о значениях индекса EA в период исследования были взяты с сайта http://seakc.meteoinfo.ru.

Для оценки связей использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена (ρ) ввиду ненормального распределения данных (проверка проводилась по тесту Шапиро–Уилка). Статистически значимыми считали корреляции при $p < 0,05$. Для оценки межгодовых различий биомассы фитопланктона использовали непараметрический критерий Краскела–Уоллиса. Расчеты и построение графиков выполнено в программах Exel, Python.

3. Результаты и Обсуждение

3.1. Климатические и абиотические условия в период исследования

Исследования были выполнены в разные по фенологии зимы годы. Основные климатические показатели зимнего периода в годы выполнения работ приведены в Таблице 1.

Зима 2022–2023 года характеризовалась умеренно холодными температурами (средняя за февраль -6,4°C при норме -8,0°C, отклонение +1,6°C), но обильными осадками (декабрь – 148% нормы, март – 155% нормы), что привело к формированию мощного снежного покрова (30 см) в конце зимы и толстого льда (70 см). Индекс атмосферной циркуляции EA демонстрировал резкие колебания: от резко отрицательных значений в декабре (−0,99) до положительных в феврале (1,02), что характерно для нестабильной циркуляции с вторжениями арктического воздуха.

Напротив, зимний период 2024–2025 года отличался более теплыми условиями: толщина льда была вдвое меньше (в марте 2025 г. – 31–40 см против 70 см в 2023 г.), снежный покров слабый (10 см). Индекс EA весь сезон был устойчиво положительным (0,29–0,77), что характерно для «атлантического» типа зим с притоком тёплого и влажного воздуха, частыми оттепелями и дождями (Голубков, 2021; Salmaso and Cerasino, 2012). В европейской части России зима 2025 года характеризовалась погодными аномалиями в виде высоких температур, дождей и раннего таяния льда (в речных экосистемах таяние льда началось в конце января, на озерах – в середине марта).

Зимний период 2025–2026 года можно охарактеризовать как наиболее суровый: средняя температура февраля (-10,1°C) была на 2,1°C ниже нормы, а январь и февраль характеризовались экс-

Таблица 1. Основные климатические показатели зимы в период исследования (I-III, XII – месяцы)

Параметры	Зима 2022–2023 гг.	Зима 2024–2025 гг.	Зима 2025–2026 гг.
Температура, оС $T_{мин.}$/$T_{макс}$.	-29,8 (I) / +10,2 (III)	-16,5 (I) / +17,0 (III)	-25,4 (II) / +16,5 (III)
Отклонение от нормы температуры мин. /макс.	-0,5 (I) / +3,0 (III)	−2,2 (II) / +5,0 (III)	-2,1 (II) / +4,3 (III)
Осадки (макс.), мм,	87 (XII)	60 (I)	125 (I)
% от нормы осадков (максимальное превышение)	155 (III)	120 (I)	251 (I)
Толщина льда*, см (снеговой / прозрачный)	50 / 20	13 / 20	29 / 12
Толщина снега*, см	30	10	снег отсутствовал
Индекс атмосферной циркуляции EA** (Декабрь / Январь / Февраль)	-0,99 (XII) / -0,54 (I) / 1,02 (II)	0,73 (XII) / 0,29 (I) / 0,77 (II)	0,65 (XII) / -0,04 (I) / 0,12 (II)

Примечание:
* – данные приведены только за март
** – по данным http://seakc.meteoinfo.ru/

тремальным количеством осадков (251% и 229% нормы соответственно). Толщина льда достигала 0,33–0,54 м, при этом доля прозрачного льда была минимальной (0,06–0,17 м), что указывает на значительное снежное покрытие, которое формировало заметную непрозрачную фракцию льда (до 30 см) (Таблица 1). Индекс ЕА колебался от положительных значений в декабре (0,65) до околонулевых в феврале (0,12), что отражает менее выраженное атлантическое влияние.

Основные изменения гидрохимических и гидрофизических показателей воды озера Лунское в период исследования представлены в Таблице 2.

По результатам гидрохимического анализа ионный состав вод озера отличался относительным постоянством как в пространственном (на всей акватории водоёма), так и в межгодовом аспекте, включая данные более ранних исследований (Старцева, 2002). Согласно классификации природных вод О. А. Алёкина (1946) озеро относится преимущественно к классу гидрокарбонатных вод кальциевой группы III типа. Однако в осенний период может происходить смещение в сторону II типа, главным образом, за счёт увеличения концентрации сульфатов. Также в январе 2026 г. зафиксировано увеличение содержания ионов Mg^{2+} (в 1,5–3 раза по сравнению с показателями декабря 2025 г.) и их преобладание в ионном составе вод озера без значимого изменения общей жёсткости воды.

Озеро Лунское характеризовалось слабой выраженной температурной стратификацией. Его воды характеризовались были равномерно прогреты в течение всего периода открытой воды. В период ледостава наиболее высокие температуры отмечались в придонных слоях (2–4˚С), тогда как в подледном слое они составляли 0–1˚С. В озере не отмечалось лимитирование кислородом, насыщение этим газом, как правило, превышало 100%, что регистрировалось как в поверхностном, так и придонном слоях.

Цветность воды оз. Лунского варьировала в пределах 3–55°, на протяжении большей части года показатель не превышает 15–20°, что позволяет охарактеризовать водоём, в целом, как олигогумозный (Китаев, 1984). Более интенсивная окраска вод отмечается в отдельные месяцы: так, максимальная цветность зафиксирована в январе 2025 года (52–55°), в июле и сентябре достигала 30–35°.

Таблица 2. Гидрохимические и гидрофизические показатели воды озера Лунское в период исследования (над чертой – диапазон средних по станциям значений за зимний период, под чертой – тоже в период открытой воды)

Параметры	2023 г.	2025 г.	2026 г.*
T, °C (мин.–макс.)	0,8–1,6 / 16,8-22,1	0–0,8 / 2,9-24,3	0–1,4
pH (мин. – макс.)	7,9–8,1 / 8,2–9,1	7,3–7,7 / 7,8–8,5	7,6–7,8
O_2, % (мин. – макс.)	нет данных / 78,6–140	72,8–148 / 37,5–141	51,1–128,6
EC, мкСм/см (мин. – макс.)	252–264 / 262–415	280–505 / 216–478	451–470
$P_{общ}$, мкг/л (мин. – макс.)	59 / нет данных	33–64 / 42–68	28–67
NO_3^-, мг/л (мин.– макс.)	2,1 / нет данных	1,9–5,8 / 0,8–2,8	3,9–5,7
Si, мг/л (мин.– макс.)	3,5 / нет данных	1,1–3,1 / 0,6–1,2	1,6–2,0
SO_4^{2-}, мг/л (мин.– макс.)	48,3 / нет данных	27,1–67,8 / 25,4–57,7	62,9–94,3
HCO_3^-, мг-экв/л (мин.– макс.)	1,5 / нет данных	1,5–1,9 / 1,1–1,7	1,6–2,2
Ca^{2+}, мг/л (мин.– макс.)	37,4 / нет данных	22,6–89,7 / 3,0–64,3	6,0–27,1
Mg^{2+}, мг/л (мин.– макс.)	17,2 / нет данных	3,6–31,7 / 0,9–26,5	11,4–23,8
Жесткость, мг-экв/л (мин.– макс.)	3,3 / нет данных	1,9–6,0 / 0,2–4,2	2,1–2,6
Мутность, ЕМФ (мин. – макс.)	6,6 / нет данных	6,6–7,9 / 6,3–7,6	5,3–7,6
Цветность, °Pt-Co (мин.– макс.)	4 / нет данных	3–55 / 6–33	1–10

Примечание: * – за 2026 г. приведены данные за период декабрь (2025 г.) – март (2026 г.)

Концентрация общего фосфора в озере Лунское не превышала 70–80 мкг/л. В течение вегетационного периода фосфор преобладал в органической форме (65–90%) в связи с активным потреблением минеральных соединений и отмиранием гидробионтов. К зиме в соотношении увеличивается доля минеральной формы фосфора: в декабре она составляла около 60%, а в феврале 2026 года – достигала 90% (Рис. 2).

Содержание нитратов в верхних слоях водной массы изменяется от следовых значений (0,8–1,1 мг/л), главным образом, во второй половине лета, до 5–6 мг/л – в зимний сезон (Рис. 3). Значимые концентрации нитритов (более 300 мкг/л) за период исследования не обнаружены.

Концентрация соединений кремния в поверхностном горизонте за весь период исследования 2025–2026 гг. варьировала от 0,5 мг/л до 2,7 мг/л. Минимальное содержание элемента в воде отмечено в апреле-мае и августе, что обусловлено активным развитием групп фитопланктона, активно использующих кремний в своей жизнедеятельности.

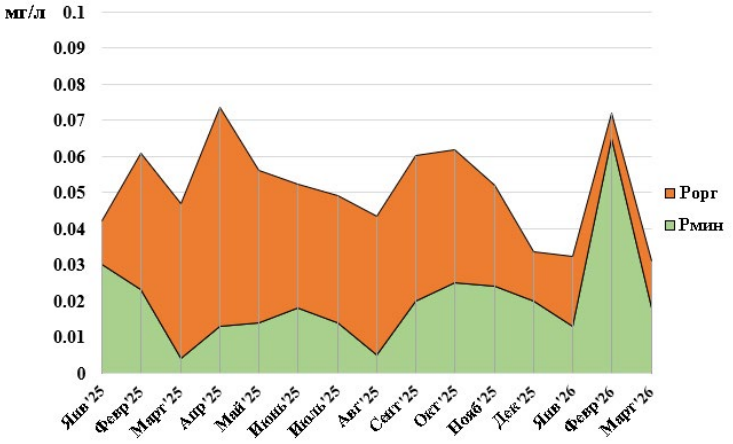


Рис.2. Содержание минеральной ($P_{мин}$) и органической ($P_{орг}$) форм фосфора в поверхностных водах озера Лунское (январь 2025 г. – февраль 2026 г.).

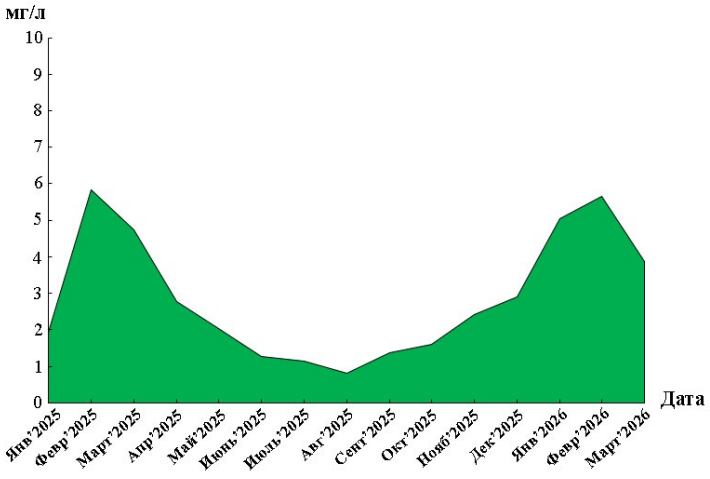


Рис.3. Содержание нитратов (NO_3^-) в поверхностных водах озера Лунское (январь 2025 г. – март 2026 г.).

3.2. Развитие фитопланктона в зимний и безледный периоды

Количество видовых и внутривидовых таксонов в сообществах фитопланктона озера Лунское варьировало от 6 до 56 в зимний сезон, от 25 до 105 в безледный период. Динамика развития фитопланктона характеризовалась заметной вариативностью между годами (Рис. 4).

В 2023 году показатели развития фитопланктона в оз. Лунском изменялись в пределах от мезотрофных (2–5 г/м^3) до эвтрофно-гипертрофных (10–31 г/м^3) значений. В зимне-весенний период 2023 года (март), несмотря на мощный снежный покров и значительную толщину льда, было зафиксировано подледное «цветение» цианобактерий (Рис. 4). Численность подледного фитопланктона по акватории озера варьировала от 70 до 294 млн кл./л, биомасса – от 1,62 до 11,81 г/м^3.

В обобщающей работе "*Blooms also like it cold*» (Reinl et al., 2023) было показано, что «цветение» цианобактерий может успешно инициироваться и поддерживаться при температурах ниже 15°C, в том числе подо льдом, что и было продемонстрировано в ряде работ (Toporowska et al., 2010; Babanazarova et al., 2013; Wejnerowski et al., 2018). Показано, что влияние изменения климата на «цветение» холодноводных цианобактерий определяется изменениями таких факторов, как свет, термическая структура и доступность питательных веществ. Например, выявлено, что осадки на заснеженном льду вызывают образование белого льда, это приводит к снижению проникновения света через лед и может способствовать развитию видов цианобактерий, адаптированных к низкому количеству и качеству света (Reuter and Müller, 1993).

В 2023 году в подледном горизонте доминировали безгетероцистные цианобактерии – *Planktothrix agardhii* (47–86% общих значений) и *Limnothrix redekei* (13–55%) (Рис. 5). Согласно функциональной классификации данный комплекс видов относится к S1 кодону (Padisák et al., 2009), предпочитающие мутные, богатые биогенами эвтрофные водоемы, что согласуется с типологией озера Лунское.

P. agardhii и *L. redekei* рассматриваются как обычные возбудители «цветения» воды в мелководных озерах и водохранилищах, в том числе при низких температурах (Rücker et al. 1997; Pełechata et al., 2006; Wejnerowski et al., 2018). В ряде работ была показана физиологическая адаптация *P. agardhii* и *L. redekei* к низкой освещенности и температуре (Rücker et al., 1997; Bonilla et al., 2012). Например, в эксперименте продемонстрирована способность *P. agardhii* расти при крайне низкой освещенности, до 10 мкмоль фотонов·м$^{-2}$·с$^{-1}$ (Weenink et al., 2015). Кроме того, у *P. agardhii* ряд морфологических особенностей (увеличение длины и ширины нитей, развитие слизи зимой, наличие газовых вакуолей) придает устойчивость этого вида к пастбищному прессу по сравнению с рядом других цианобактерий (Wejnerowski et al., 2018). Указанные особенности обеспечивают не только выживание этих видов

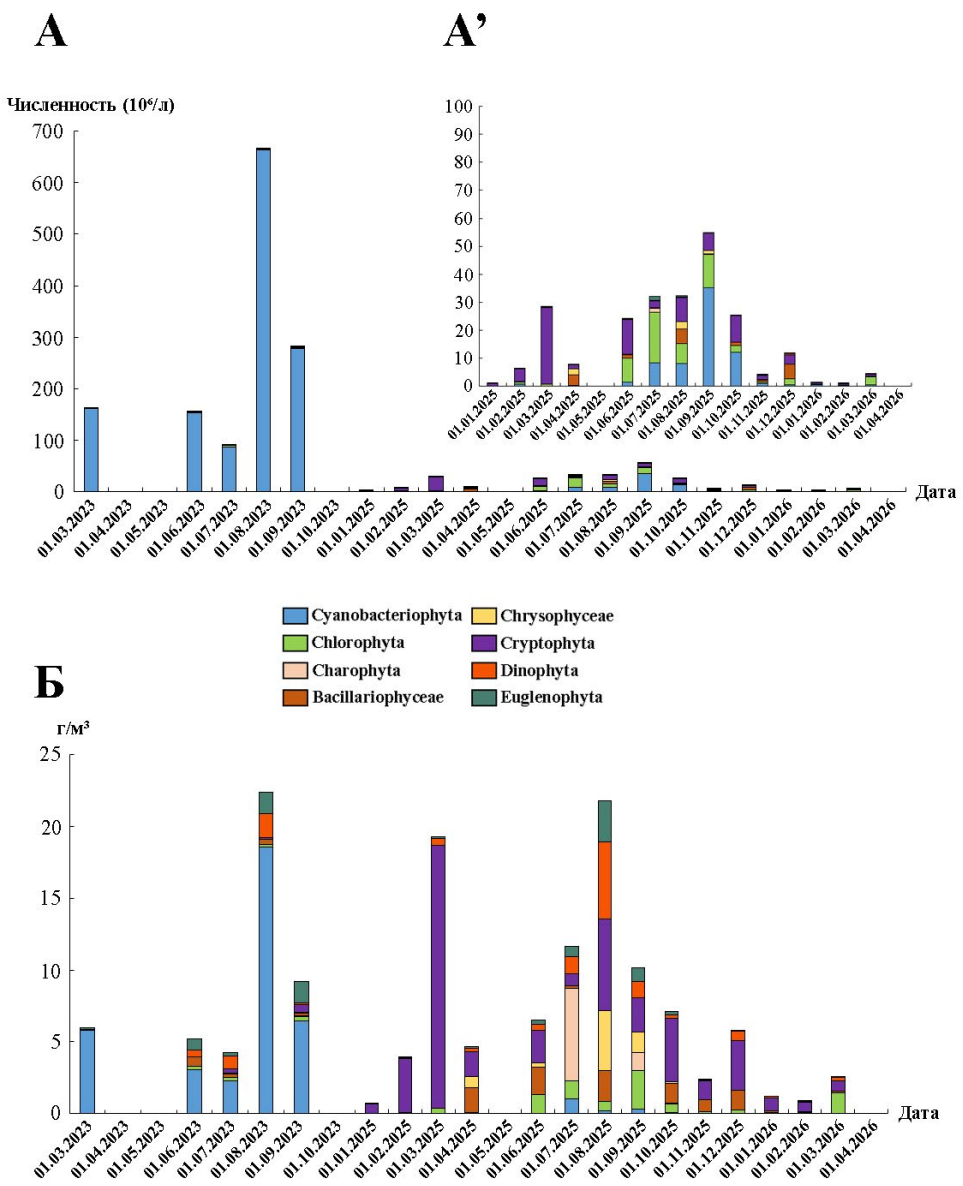


Рис.4. Сезонная динамика численности (А, А' – увеличенно за период с января 2025 г. по февраль 2026 г.) и биомассы (Б) фитопланктона в оз.Лунское в годы исследования.

зимой, но и способствуют их массовому развитию в отсутствии конкуренции других. Несмотря на схожие адаптации к обитанию в зимних условиях у обоих представителей, для *L. redekei* отмечается снижение его развития в условиях заметного перемешивания и лимитирования азотом, в отличие от *P. agardhii* (Rücker et al., 1997). В подледной воде доминирование *P. agardhii* и *L. redekei* происходило практически в равных соотношениях, что может свидетельствовать о формировании в озере условий, благоприятных для обоих видов (отсутствие выраженной стратификации, с одной стороны, и отсутствие лимитирования по азоту, с другой).

В безледный период 2023 г. (с июня по сентябрь) структура сообщества фитопланктона оз. Лунское на уровне крупных таксонов менялась слабо, в планктоне водоема по-прежнему отмечалось доминирование цианобактерий (95–98% общей численности, 40–83% биомассы). Наибольшие значения биомассы (более 20 г/м^3) отмечались в августе-сентябре (Рис. 4). В начале лета (июнь) доминантами оставались представители подледного планктона (*L. redekei* и *P. agardhii*), а также представитель диазотрофных цианобактерий *Raphidiopsis raciborskii* (Woloszynska) Aguilera & al., который рассматривается как инвазийный вид (Корнева, 2014). Однако его роль в сообществе была невысокой, средняя за период исследований биомасса составила 0,41 ± 0,27 г/м^3 (Старцева и др., 2026). В августе и сентябре единственным доминантом стал еще один представитель кодона S1, *Limnothrix planctonica* (Wołoszyńska) Meffert, который создавал от 12,8 до 95% общей численности и от 53,3 до 82,7 % общей биомассы фитопланктона с частотой доминирования до 58-65 % соответственно. Постоянными компонентами летнего планктона с субдоминирующей ролью также выступали представители фитофлагеллят из динофитовых и эвгленовых.

Анализ многолетней сукцессии фитопланктона озера Лунское (за 30ти летний период) (Старцева, 2002; Старцева и Охапкин, 2003; Старцева и др., 2026) подтвердил высокий трофический статус водоема по показателям развития фитопланктона, однако продемонстрировал смену доминирующих комплексов цианобактерий от превалирования кодона H1 (*Aphanizomenon* + *Anabaena*) к кодону S1 (*Planktothrix* + *Limnothrix*), что позволяет классифицировать озеро Лунское как водоем «планктотрихетового» типа.

На примере эвтрофных озер Польши было показано (Lenard et al., 2019), что мягкие зимы способствуют повышению общей биомассы, а также биомассы цианобактерий и криптофитовых водорослей в безледный период. Однако наши ожидания, что зима 2025 года с ярко выраженным «атлантическим» типом, частыми оттепелями, заменой весеннего половодья сильным зимним паводком, будет способствовать активному развитию цианобактерий планктотрихетового комплекса в озере, не нашло подтверждения.

В 2025 г. в подледном сообществе фитопланктона озера Лунское цианобактерии практически отсутствовали, а абсолютными доминантами (до 80–97% биомассы) стали миксотрофные криптофитовые водоросли (Рис. 4). Самые низкие значения численности и биомассы отмечались в начале января (0,89–0,92 млн кл./л и 0,05–0,07 г/м^3 соответственно) (Рис. 6). Однако после январского паводка и полного таяния снега с поверхности льда, сформировались оптимальные световые условия, которые стимулировали вегетацию подледного фитопланктона и образование раннего пика. Зимний пик развития фитопланктона был сопоставимым с летним максимумом (Рис. 4). Максимальные значения отмечались в марте – до 28,17–35,46 млн кл./л численности и 19,09–20,93 г/м^3 биомассы. Показано (Dokulil and Herzig, 2009), что в условиях «атлантизации» зимы классическое весеннее половодье может смещаться или ослабевать, уступая место зимним дождевым паводкам, что меняет поступление биогенных веществ, взмучивает осадки, и имеет критическое значение для раннего развития фитопланктона.

Основу зимнего доминирующего комплекса в 2025 г. определяли виды рода *Cryptomonas* и *Komma caudata*. Среди цианобактерий отмечались, но не занимали доминирующих позиций, *P. agardhii,* виды родов *Microcystis* и *Aphanocapsa*. Известно, что эукариотические водоросли часто вытесняют цианобактерий зимой, однако в литературе также указывается на их содоминирование и сосуществование в период ледостава преимущественно в эвтрофных и гипертрофных водоемах (Reinl et al., 2023). Так, совместное подледное «цветение» центрических диатомовых (*Cyclotella*) и безгетероцистных цианобактерий (*P. agardhii* и *L. redekei*) в эвтрофных озерах Польши (Toporowska et al., 2010) определялось высокими концентрациями фосфора и активным перемешиванием, что вначале стимулировало рост диатомей, а потом синезеленых водорослей. С другой стороны показано (Salmaso and Cerasino, 2012),

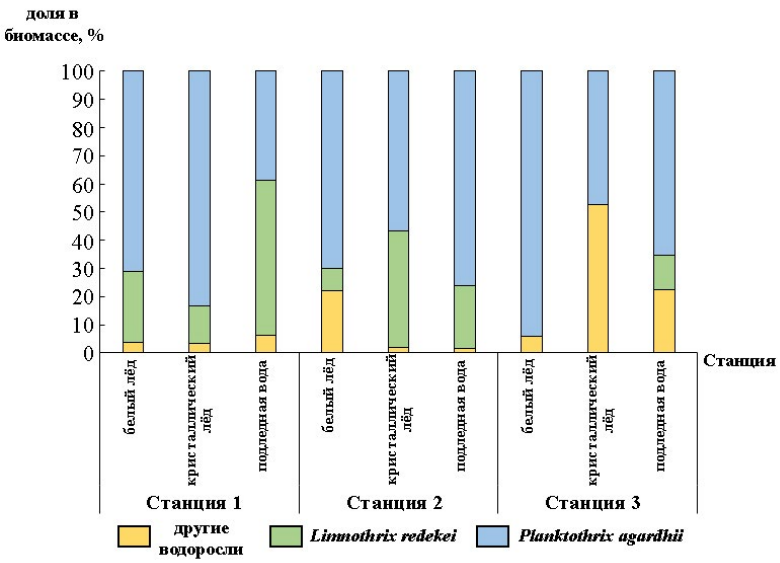


Рис.5. Доля *Planktothrix agardhii* и *Limnothrix redekei* в биомассе подледного фитопланктона и водорослей льда озера Лунское в марте 2023 г.

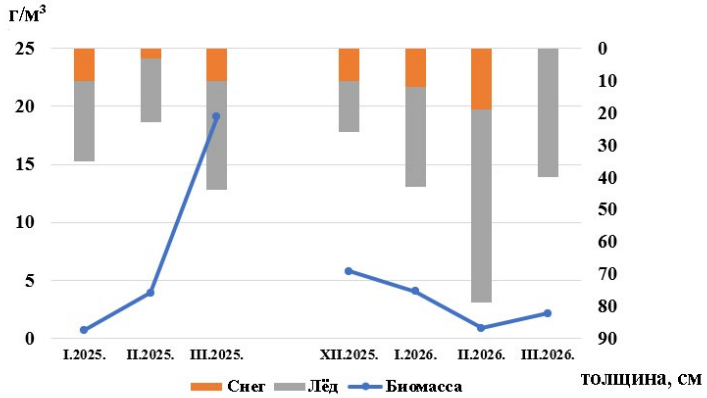


Рис.6. Динамика биомассы подледного фитопланктона и толщина льда и снега зимой 2025 и 2026 гг.

что теплые зимние фазы восточно-атлантического (EA) типа атмосферной циркуляции могут замедлять процессы поступления фосфора из гиполимниона и ослаблять эвтрофикацию.

В 2023 и 2025 гг. содержание общего фосфора в воде озера Лунское было схожим, поэтому лимитирование по этому показателю отсутствовало. Показано, что среди различных приспособлений водорослей к жизни подо льдом, именно способность к миксотрофии (встречается среди разных групп водорослей) является основной формой адаптации к выживанию в суровых условиях низких температур и недостатка света (Søgaard et al., 2021; Obertegger et al., 2022). Видимо, вспышка криптофитового «цветения» в озере Лунское в марте 2025 г. определялась слабым развитием снегового покрова, оптимальными световыми условиями, дополнительным поступлением питательных веществ в период паводка. Способность этой группы к активному перемещению в толще воды благодаря наличию жгутиков определило их конкурентное преимущество по сравнению с другими представителями.

Последующая сезонная динамика фитопланктона происходила следующим образом. В начале весны отмечалось развитие холодолюбивых золотистых водорослей (до 16–20% общей биомассы) с доминированием видов рода *Dinobryon*, а также мелких центрических диатомей рода *Cyclotella* (до 40%) (Рис. 4). Летом состав доминирующих видов был более богатый. По биомассе выделялись коккоидные зеленые и харовые водоросли (*Oocystis lacustris* Chodat, *Pedisatrum* и *Staurastrum* соответственно), золотистые (*Mallomonas*), эвгленовые (*Trachelomonas*), динофитовые (*Gymnodinium*, *Peridinium*). По численности значимыми были цианобактерии из родов *Microcystis* и *Dolichospermum.* Летний пик биомассы (22 г/м^3) был зарегистрирован в августе. Однако в течение всего периода открытой воды основным компонентом фитопланктона оставались криптофитовые водоросли. Их вклад в биомассу снижался лишь в летние месяцы до 20–30%, и возрастал в осенний сезон до 60–70%. Комплекс доминирующих видов определяли виды рода *Cryptomonas* и *Komma caudata.* В конце осеннего сезона (ноябрь) возрастала роль диатомей и зеленых вольвоксовых водорослей. Осенний комплекс доминант (*Cyclotella* sp. и виды рода *Ulnaria* из диатомей, *Chlamydomonas* из зеленых) встраивались в формирующуюся структуру льда в период его становления.

Уровень биомассы фитопланктона (более 5 г/м^3) на момент становления льда (третья декада января) соответствовал эвтрофному уровню. В начале 2026 г. подлёдный фитопланктон был крайне беден (численность 0,8–4,3 млн кл./л, биомасса 0,84–2,30 г/м^3) (Рис. 6). Самые низкие значения развития отмечались в феврале, когда в ледовом покрове сформировался заметный слой белого льда в результате экстремально высокого количества выпавших осадков. В подледном горизонте по-прежнему доминировали криптофитовые водоросли (до 79% биомассы). Однако в начале весеннего сезона активное развитие зеленых вольвоксовых водорослей сформировало тренд подъема биомассы, который позже может создать весенний пик «цветения».

Для оценки взаимосвязей между гидрохимическими параметрами и показателями развития фитопланктона был проведён корреляционный анализ Спирмена. Среди абиотических параметров сильные (ρ свыше 0,7) положительные связи с большинством исследованных групп были отмечены для температуры и pH (Рис. 7), что может указывать на более благоприятные условия развития именно в летний сезон, в период максимального прогрева водных масс. Отрицательные связи с температурой были показаны для доли криптофитовых водорослей, что подчеркивает сильную ценозообразующую роль представителей этой группы зимой.

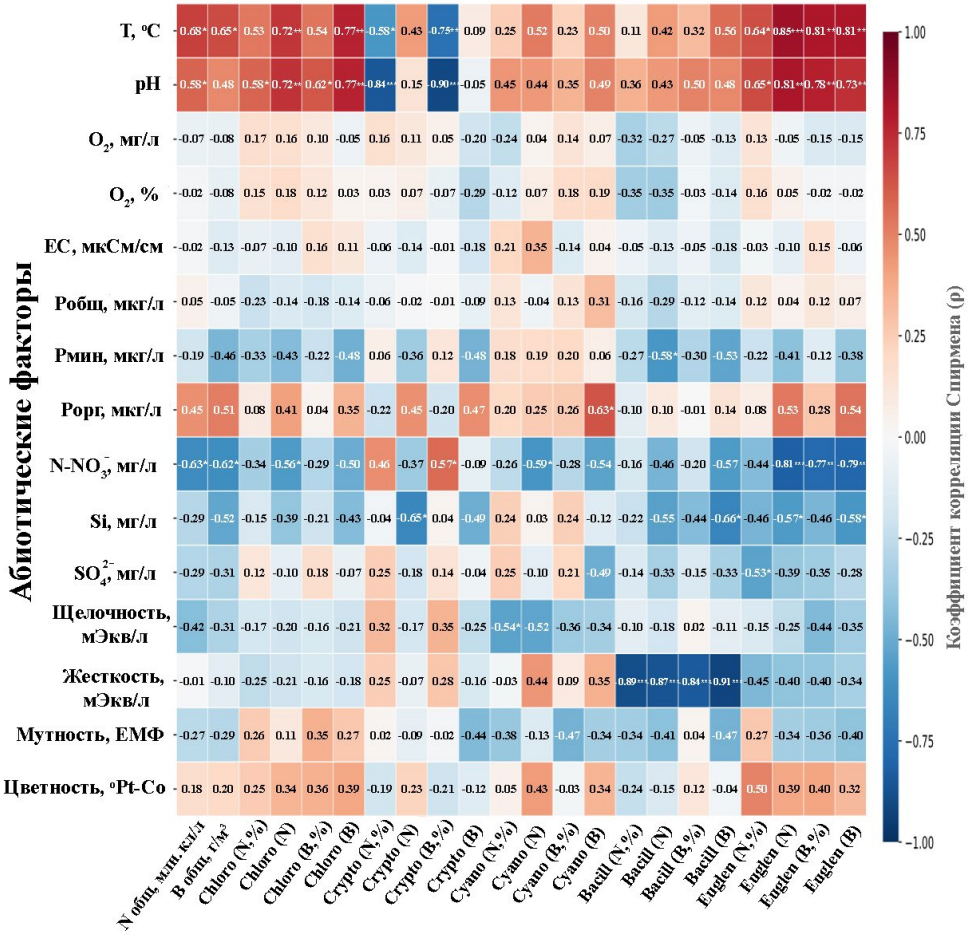


Рис.7. Корреляции Спирмена между абиотическими факторами и показателями фитопланктона в озере Лунское (тепловая карта). Примечание: Chloro, Crypto, Cyano, Bacill, Euglen – зеленые, криптофитовые, синезеленые, диатомовые и эвгленовые водоросли соответственно.

Отрицательная связь почти со всеми группами фитопланктона продемонстрирована для нитратов (наиболее высокая (0,81, 0,77, 0,79, $p < 0,01$) показана для эвгленовых), что может быть признаком лимитирования азотом в виду его активного потребления. Статистически значимая положительная корреляция нитратов показана для доли криптофитовых водорослей, которые в условиях низких температур зимой и высокой насыщенности в это время азотом, могли использовать этот ресурс для активного роста.

Избирательным оказалось влияние кремния, который продемонстрировал умеренные отрицательные связи (0,57…0,66) с диатомеями. Обнаруженная отрицательная корреляция между содержанием кремния и развитием диатомовых водорослей, вероятно, отражает не лимитирующую роль кремния, а его активное потребление диатомеями (для построения панцирей) в периоды массового развития (Рис. 8). Данный эффект известен как ‘парадокс кремния’ и описан для многих озёрных экосистем (Reynolds, 2006). Для диатомовых водорослей также отмечалась отрицательная связь с показателями жесткости воды.

Содержание фосфора слабо коррелировало с фитопланктоном. Большинство коэффициентов около 0, ни один не достигает высокой значимости, кроме единичных 0,58 для минерального фосфора ($p < 0,05$) с диатомовыми водорослями и 0,64 для органического фосфора ($p < 0,05$) и цианобактерий. Это может указывать на то, что фосфор не лимитирует фитопланктон в данном озере.

3.3. Развитие водорослей льда

Лед является важным специфическим структурным компонентом биосферы, который регулирует условия в толще воды и является хорошо защищенной динамичной экологической нишей (Генкал и Комулайнен, 2020). Поэтому в своей работе мы также изучали развитие водорослей в толще льда.

Таксономическое разнообразие водорослей, заселяющих лед варьировало от 4 до 62 таксонов. В 2023 году массовое развитие цианобактерий отмечалось как в подледной воде, так и в толще льда, при этом максимальные концентрации чаще отмечались в нижнем кристаллическом слое льда (Таблица 3), иногда превышая таковые подледного горизонта в 1,5–2 раза.

В отличие от подледных горизонтов, где преобладал комплекс *P. agardhii* + *L. redekei,* во льду доминирование *P. agardhii* оказалось более выраженным (80–90% суммарных показателей) (Рис. 5, 9). Тонкие нити *L. redekei* характеризуется чувствительностью к механическому стрессу (Rücker et al., 1997), что может ограничивать рост данной цианобактерии в условиях кристаллизации воды. Кроме цианобактерий во льду также встречались представители фитофлагеллят из отделов зеленых, эвгленовых и динофитовых водорослей, однако доминирующих позиций они занимали редко.

Во время мягкой зимы 2025 года во льду развитие водорослей было слабым и более активно шло в верхней снеговой (непрозрачной) фракции, периодически таявшей в период оттепелей. Было отмечено, что численность водорослей льда в непрозрачном льду возрастала в 6 раз к марту (с 0,35 до 2,08 млн кл./л), биомасса – в 8 раз (с 0,06 до 0,50 г/м^3) (Таблица 3).

Пресноводный лед существует значительно более короткое время, чем морской, он монолитен, его интерстициаль занимает малый объем, а развитая система пор и каналов возникает только весной (Salonen et al., 2009). По-видимому, именно развитие интерстициали в марте, а также зимний паводок способствовали развитию водорослей в конце зимнего периода.

За три зимних месяца отмечалась последовательная сукцессия доминирующих групп. В январе формировалось гетерогенное сообщество, представленное криптофитовыми (30–50% биомассы), зелеными водорослями (30–40%), диатомовыми

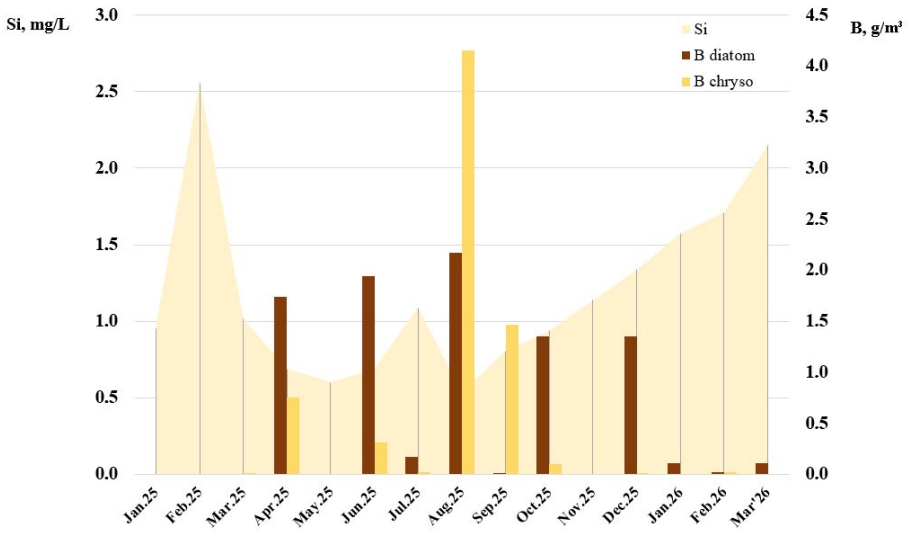


Рис.8. Динамика содержания кремния (Si, мг/л) и биомасса (B, г/м^3) диатомовых (Bacill) и золотистых (Chryso) водорослей в озере Лунское.

Таблица 3. Показатели развития (M ± m) и доминирующие виды водорослей в разных фракциях льда в озере Лунское

Параметры	Март 2023 г.		Март 2025 г.		Март 2026 г.	
Фракция льда	белый	кристал.	белый	кристал.	белый	кристал.
Численность, млн. кл./л	29,96 ± 9,20	166,92 ± 118,76	2,08 ± 0,71	1,03 ± 0,39	6,05 ± 0,93	1,35 ± 0,26
Биомасса, г/м^3	1,20 ± 0,42	7,94 ± 6,59	0,50 ± 0,15	0,26 ± 0,09	3,26 ± 1,11	0,42 ± 0,10
Доминанты по численности	*Planktothrix agardhii*, *Limnothrix redekei*	*Planktothrix agardhii*, *Limnothrix redekei*	*Monoraphidium* spp., *Chlamydomonas* spp.	*Monoraphidium* spp., *Chlamydomonas* spp., *Romeria* sp.,	*Chlamydomonas* spp., *Ulnaria* sp.	*Monoraphidium* spp., *Chlamydomonas* spp., *Aphanothece clathrata*, *Cyclotella* sp., *Ulnaria* sp.
Доминанты по биомассе	*Planktothrix agardhii, Limnothrix redekei, Trachelomonas volvocina*	*Planktothrix agardhii, Limnothrix redekei, Phacus caudatus*	*Chlamydomonas* spp., *Cryptomonas* spp.	*Chlamydomonas* spp., *Cryptomonas* spp.	*Ulnaria* sp.	*Ulnaria* sp., *Cyclotella* sp.

и золотистыми водорослями (совокупно 20%). В феврале в непрозрачной фракции льда (после паводка) отмечалось развитие представителей рода *Chlamydomonas* (до 30–40% биомассы), тогда как в прозрачной фракции они уступали криптомонадам (их вклад был более 40–50%). Совместно с зелеными вольвоксовыми развивались палочковидные водоросли рода *Monoraphidium* (до 60%), подобная морфология клетки дает преференции в колонизации льда (Bashenkhaeva et al., 2015). В марте разделение водорослей по фракциям льда (снежный лед с доминированием *Chlamydomonas*, прозрачный – *Cryptomonas*) стало более четким.

Становление льда в 2025–2026 гг. началось в середине декабря (толщина составляла 6 см), а его разделение на фракции – с января. По акватории пелагиали численность водорослей во льду варьировала от 1,06 до 2,31 млн кл./л, биомасса – от 0,25 до 0,67 г/м^3. «Инициальное» сообщество водорослей льда, как это указывается и для других водоемов (Баженова и Коржова, 2014; Dokulil and Herzig, 2009), было сформировано представителями осеннего планктона – криптофитовыми (*Cryptomonas* spp.) и диатомеями (виды родов *Cyclotella*, *Ulnaria*).

Низкие температуры, формирование мощного снежного покрова вследствие аномально высокого количества осадков лимитировали активную вегетацию водорослей в зимний период 2026 г. В январе биомасса не превышала 0,6 г/м^3. В этот срок основу криофитона составляли диатомовые водоросли, доля которых в прозрачном льду достигала 70% биомассы и 80% численности, а в непрозрачном — 39% и 59% соответственно. Доминирующими видами являлись мелкие центрические диатомеи *Cyclotella* sp. и крупные пеннатные диатомеи из рода *Ulnaria.* В условиях холодного января именно диатомовые водоросли, обладающие высокой холодоустойчивостью и способностью к эффективному светособиранию при низкой освещенности, выступают в роли пионерного сообщества, формируя основу ледового альгоценоза, что согласуется с данными литературы (Obertegger et al., 2022; Zhang et al.,

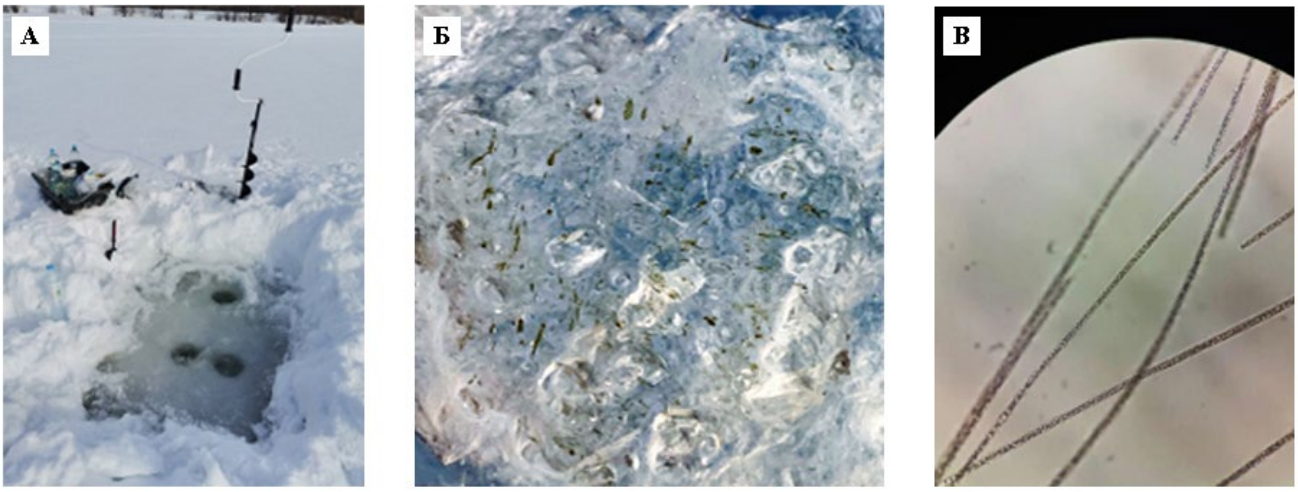


Рис.9. Станция отбора проб на озере Лунское в марте 2023 г. (А), кристаллическая фракция керна льда с вкраплениями цианобактерий (Б) и *Planktothrix agardhii* в микроскопических пробах (В).

2025). В непрозрачной (снеговой) фракции льда, где световой режим был наиболее лимитирован, структура сообщества оказалась более сбалансированной. Наряду с диатомеями (39% биомассы) здесь присутствовали разные группы фитофлагеллят – криптофитовые водоросли, прежде всего *Cryptomonas* cf. *curvata* Ehrenberg (22,5% биомассы), динофитовые (*Gymnodinium simile* Skuja — 19% биомассы) и зеленые водоросли (*Chlamydomonas* sp. — 10,6% биомассы).

В последующие месяцы происходило увеличение биомассы водорослей до более 3 г/м^3 в непрозрачной фракции льда (Таблица 3) в марте месяце. Криофитон становился более разнообразным, число видов в пробе возрастало до 50–55 таксонов. При этом комплекс доминирующих видов по-прежнему определялся диатомовыми водорослями, а в снеговой части – также представителями фитофлагеллят.

Для оценки межгодовых различий биомассы криофитона использовали непараметрический критерий Краскела–Уоллиса. Установлены значимые различия между годами как для непрозрачного ($H = 10,74$, $p = 0,005$), так и для прозрачного льда ($H = 6,29$, $p = 0,043$). Попарные сравнения по Данну (Dunn, 1961) показали, что основное различие наблюдалось между 2023 и 2025 гг. ($p < 0,05$ для обоих типов льда), что указывает на снижение биомассы в 2025 г. Внутри каждого года различия между прозрачным и непрозрачным льдом оказались незначимыми ($p > 0,05$ во всех случаях). Тем не менее, выявленная нами вертикальная дискретность в распределении водорослей в толще льда также отмечалась и в других пресноводных озерах, например, в городских озерах Петрозаводска (Карелия) (Сластина и др., 2011), при этом максимальные концентрации водорослей могли наблюдаться как верхних, так и нижних слоях льда.

4. Заключение

Проведённые исследования фитопланктона пойменного озера Лунское в годы с различной фенологией зимы (2023, 2025 и 2026 гг.) продемонстрировали неоднозначность ответных реакций альгоценозов на климатические аномалии. Несмотря на отсутствие универсальной схемы сукцессии подлёдного фитопланктона для всех типов зимнего режима, можно констатировать значимую роль периода ледостава в функционировании экосистемы водоёма. Фенология зимы представляет собой комплексный процесс, зависящий от совокупности факторов: световых условий, определяемых прозрачностью ледового покрова и мощностью снега, газового режима и доступности биогенных элементов. Состав зимнего планктона представлен комплексом видов, обладающих схожими адаптациями к экстремальным условиям (низкой температуре и дефициту света), позволяющий выживать в таких условиях, и в отсутствии конкуренции формировать вспышки «цветения». В суровую и снежную зиму 2023 г. нами отмечалось «цветение» холодноводных цианобактерий комплекса S1 (*Planktothrix agardhii* и *Limnothrix redekei*). «Атлантизация» зимы (на примере 2025 г., с положительным индексом атмосферной циркуляции ЕА и слабым снежным покровом) не всегда стимулировала цианобактериальное «цветение», и могла провоцировать зимний паводковый пик развития (до 20 г/м^3) миксотрофных криптомонад (*Cryptomonas* spp., *Komma caudata*), сопоставимый по биомассе с летними максимумами. В годы с устойчивым снежным покровом и низкой светопроницаемостью (2026 г.) продуктивность подлёдного фитопланктона была минимальной.

Ледовый покров выступает не только как физический барьер, но и как фильтр светового режима, а также как специфическая экологическая ниша для развития водорослей. В структуре льда происходит сезонная сукцессия: от «предшествующего» гетерогенного сообщества осеннего планктона в начале ледостава до формирования выраженных комплексов доминантов к концу зимы. Для водорослей льда характерна высокая межгодовая вариабельность и сезонная сукцессия. В мягкие зимы в отличие от холодных, происходит расслоение сообществ по горизонтам льда, что обусловлено появлением водной среды в верхних (снеговых) фракциях во время паводков, где активно развиваются жгутиковые формы (зелёные водоросли рода *Chlamydomonas*).

Благодарности

Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда № 25-24-00573

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Список литературы

Алекин О.А. 1946. К вопросу о химической классификации природных вод. Труды Научно-исследовательского учреждения Главного управления гидрометеорологической службы IV(32). Ленинград: Гидрометеоиздат.

Афонина Е.Ю., Ташлыкова Н.А., Цыбекмитова Г.Ц. и др. 2017. Водоросли и беспозвоночные в пресноводном льду (Забайкальский край). Криосфера Земли 21(5): 60–68. DOI: 10.21782/EC1560-7496-2017-5(60-68)

Бабаназарова О.В., Кармайер Р., Сиделев С.И. и др. 2011. Структура фитопланктона и содержание микроцистина в высокоэвтрофном озере Неро. Водные ресурсы 38(2): 223–231.

Баженова О.П., Коржова Л.В. 2014. Криофитон озера Калач (Омская область). Сибирский экологический журнал 1: 61–68.

Воденеева Е.Л., Кулизин П.В. 2019. Водоросли Мордовского заповедника (аннотированный список видов). Москва: Флора и фауна заповедников. 134.

Гелашвили Д.Б., Охапкин А.Г., Доронина А.И. и др. 2005. Экологическое состояние водных объектов Нижнего Новгорода. Нижний Новгород: Издательство Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского.

Генкал С.И., Комулайнен С.Ф. 2020. Диатомовые водоросли льда и подледной воды некоторых озер Карелии. Ботанический журнал 105(2): 159–168.

Голубков С.М. 2021. Влияние климатических колебаний на структуру и функционирование экосистем континентальных водоемов. Сибирский экологический журнал 1: 1–12.

Китаев Л.М. 2014. Изменчивость характеристик ледовых явлений бассейна Средней Волги. В: Труды VIII конференции «Динамика и термика рек, водохранилищ и прибрежной зоны морей». Москва: Институт водных проблем Российской академии наук, С. 411–423.

Китаев С.П. 1984. Экологические основы биопродуктивности озер разных природных зон. Москва: Наука.

Корнева Л.Г. 2014. Инвазии чужеродных планктонных водорослей в пресные воды Голарктики (Обзор). Российский журнал биологических инвазий 1: 9–37.

Сластина Ю.Л., Комулайнен С.Ф., Потахин М.С. и др. 2011. Структура криофитона озер города Петрозаводска. Труды Карельского научного центра РАН 4: 138–141.

Снитько Л.В. 2006. Динамика массовых видов фитопланктона озера Большой Кисегач (Южный Урал). Известия Челябинского научного центра УрО РАН 3: 6–10.

Старцева Н.А. 2002. Состав и структура фитопланктона малых водных объектов урбанизированного ландшафта (на примере г. Нижнего Новгорода). Дис.... канд. биол. наук, Нижний Новгород, Россия.

Старцева Н.А., Гаврилко Д.Е., Охапкин А.Г. и др. 2026. Цианобактерии в альгоценозах малого водного объекта урбанизированного ландшафта (на примере озера Лунское, г. Нижний Новгород). Биология внутренних вод 19(3): 490–502.

Старцева Н.А., Охапкин А.Г. 2003. Состав и структура фитопланктона некоторых пойменных озер культурного ландшафта (на примере г. Нижнего Новгорода). Биология внутренних вод 4: 35–42.

Ташлыкова Н.А. 2012. Водоросли ледовых сообществ озера Арахлей. Вестник КрасГАУ 1: 87–90.

Babanazarova O., Sidelev S., Schischeleva S. 2013. The structure of winter phytoplankton in Lake Nero, Russia, a hypertrophic lake dominated by Planktothrix-like cyanobacteria. Aquatic Biosystems 9: 18. DOI: 10.1186/2046-9063-9-18

Bashenkhaeva M.V., Zakharova Yu.R., Petrova D.P. et al. 2015. Sub-ice microalgal and bacterial communities in freshwater Lake Baikal, Russia. Microbial Ecology 70(3): 751–765. DOI: 10.1007/s00248-015-0619-2

Bogatov V.V., Fedorovskiy A.S. 2016. Freshwater ecosystems of the southern region of the russian far east are undergoing extreme environmental change. Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems 417: 34. DOI: 10.1051/kmae/2016021

Bonilla S., Aubriot L., Soares M.C.S. et al. 2012. What drives the distribution of the bloom-forming cyanobacteria *Planktothrix agardhii* and *Cylindrospermopsis raciborskii*? FEMS Microbiology Ecology 79(3): 594–607. DOI: 10.1111/j.1574-6941.2011.01242.x

Carey C.C., Ibelings B.W., Hoffmann E.P. et al. 2012. Eco-physiological adaptations that favour freshwater cyanobacteria in a changing climate. Water Research 46: 1394–1407.

Cavaliere E., Fournier I.B., Hazuková V. et al. 2021. The lake ice continuum concept: influence of winter conditions on energy and ecosystem dynamics. Journal of Geophysical Research: Biogeosciences 126(11): e2020JG006165. DOI: 10.1029/2020JG006165

Codd G.A., Morrison L.F., Metcalf J.S. 2005. Cyanobacterial toxins: Risk management for health protection. Toxicology and Applied Pharmacology 203: 264–272.

Dokulil M.T. 2014. Predicting summer surface water temperatures for large Austrian lakes in 2050 under climate change scenarios. Hydrobiologia 731: 19–29.

Dokulil M.T., Herzig A. 2009. An analysis of long-term winter data on phytoplankton and zooplankton in Neusiedler See, a shallow temperate lake, Austria. Aquatic Ecology 43(3): 715–725.

Downing J.A., Watson S.B., McCauley E. 2001. Predicting cyanobacteria dominance in lakes. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 58(10): 1905–1908.

Dunn O.J. 1961. Multiple comparisons among means. Journal of the American Statistical Association 56(293): 52–64.

Guiry M.D., Guiry G.M. 2026. AlgaeBase. World-Wide Electronic Publication, National University of Ireland, Galway. URL: http://www.algaebase.org

Hampton S.E. et al. 2017. Ecology under lake ice. Ecology Letters 20(1): 98–111.

Ho J.C., Michalak A.M. 2017. Phytoplankton blooms in Lake Erie impacted by both long-term and springtime phosphorus loading. Journal of Great Lakes Research 43(3): 221–228.

Huertas I.E., Rouco M., López-Rodas V. et al. 2011. Warming will affect phytoplankton differently: evidence through a mechanistic approach. Proceedings of the Royal Society B 278: 3534–3543.

Lenard T., Ejankowski W., Poniewozik M. 2019. Responses of phytoplankton communities in selected eutrophic lakes to variable weather conditions. Water 11: 1207. DOI: 10.3390/w11061207

Macário I.P.E., Castro B.B., Nunes M.I.S. et al. 2017. Stepwise strategy for monitoring toxic cyanobacterial blooms in lentic water bodies. Environmental Monitoring and Assessment 189(12): 620. DOI: 10.1007/s10661-017-6292-9

Nõges P., Adrian R., Anneville O. et al. 2010. The impact of variations in the climate on seasonal dynamics of phytoplankton. In: George D.G. (Ed.). The Impact of Climate Change on European Lakes. Aquatic Ecology Series 4. London: Springer Science + Business Media B.V., pp. 253–274.

Obertegger U., Flaim G., Corradini S. et al. 2022. Multiannual comparisons of summer and underice phytoplankton communities of a mountain lake. Hydrobiologia 849: 4613–4635. DOI: 10.1007/s10750-022-04952-3

Okhapkin A.G., Sharagina E.M., Kulizin P.V. et al. 2022. Phytoplankton Community Structure in Highly-Mineralized Small Gypsum Karst Lake (Russia). Microorganisms 10: 386.

Padisák J., Crossetti L.O., Naselli-Flores L. 2009. Use and misuse in the application of the phytoplankton functional classification: a critical review with updates. Hydrobiologia 621: 1–19.

Pełechata A., Pełechaty M., Pukacz A. 2006. Cyanoprokaryota of shallow lakes of Lubuskie Lakeland (mid-western Poland). Oceanological and Hydrobiological Studies 35(1): 3–14.

Reinl K.L., Harris T.D., North R.L. et al. 2023. Blooms also like it cold. Limnology and Oceanography Letters 8(4): 546–564. DOI: 10.1002/lol2.10316

Reuter W., Müller C. 1993. New trends in photobiology: Adaptation of the photosynthetic apparatus of cyanobacteria to light and CO2. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology 21: 3–27. DOI: 10.1016/1011-1344(93)80159-7

Reynolds C.S. 2006. The Ecology of Phytoplankton. Cambridge: Cambridge University Press.

Rücker J., Wiedner C., Zippel P. 1997. Factors controlling the dominance of Planktothrix agardhii and Limnothrix redekei in eutrophic shallow lakes. Hydrobiologia 342: 107–115.

Salmaso N., Cerasino L. 2012. Long-term trends and fine year-to-year tuning of phytoplankton in large lakes are ruled

by eutrophication and atmospheric modes of variability. In: Phytoplankton responses to human impacts at different scales. Dordrecht: Springer Netherlands, pp. 17–28.

Salonen K., Leppäranta M., Viljanen M. et al. 2009. Perspectives in winter limnology: closing the annual cycle of freezing lakes. Aquatic Ecology 43: 609–616. DOI: 10.1007/s10452-009-9278-z

Sharagina E.M., Kulizin P.V., Startseva N.A. et al. 2024. Dominant species and functional complexes of phytoplankton in some unique karst lakes of the Middle Volga basin. Limnology and Freshwater Biology 3: 195–220. DOI: 10.31951/2658-3518-2024-A-3-195

Sharma S., Blagrave K., Watson S.R. et al. 2020. Increased winter drownings in ice-covered regions with warmer winters. PLoS ONE 15(11): e0241222. DOI: 10.1371/journal.pone.0241222

Søgaard D.H., Sorrell B.K., Sejr M.K. et al. 2021. An under-ice bloom of mixotrophic haptophytes in low nutrient and freshwater-influenced Arctic waters. Scientific Reports 11: 2915. DOI: 10.1038/s41598-021-82001-y

Thompson R., Kamenik C., Schmidt R. 2005. Ultra-sensitive Alpine lakes and climate change. J. Limnol. 64(2): 139–152.

Toporowska M., Pawlik-Skowrońska B., Krupa D. et al. 2010. Winter versus summer blooming of phytoplankton in a shallow lake: effect of hypertrophic conditions. Polish Journal of Ecology 58(1): 3–12.

Vodeneeva E., Pichugina Y., Zhurova D. et al. 2024. Epiplastic Algal Communities on Different Types of Polymers in Freshwater Bodies: A Short-Term Experiment in Karst Lakes. Water 16(22): 3288. DOI: 10.3390/w16223288

Vodeneeva E.L., Okhapkin A.G., Genkal S.I. et al. 2020. Composition, structure and distribution of the phytoplankton of highly mineralized karst lake. Inland Water Biology 13: 576–584. DOI: 10.1134/S1995082920040136

Weenink E.F.J., Luimstra V.M., Schuurmans J.M. et al. 2015. Combatting cyanobacteria with hydrogen peroxide: a laboratory study on the consequences for phytoplankton community and diversity. Frontiers in Microbiology 6:714. DOI: 10.3389/fmicb.2015.00714

Wejnerowski Ł., Rzymski P., Kokociński M. et al. 2018. The structure and toxicity of winter cyanobacterial bloom in a eutrophic lake of the temperate zone. Ecotoxicology 27: 752–760.

Zhang X., Wang Y., Li Z. et al. 2025. Substantial role of underice limnological processes in diatom dynamics in the alpine lakes of the Chinese Loess Plateau. Ecosphere 16(2): e70199. DOI: 10.1002/ecs2.70199