

Ученые записки Казанского университета.

Серия Естественные науки

рецензируемый научный журнал

2024

Т. 166, кн. 1

УЧЕННЫЕ ЗАПИСКИ КАЗАНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА ОСНОВАНЫ В 1834 ГОДУ

Редакционная коллегия

Главный редактор

Д.А. Таюрский – д-р физ.-мат. наук, проф., Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия

Члены редколлегии

Г.К. Зиятдинова (зам. гл. ред.) – д-р хим. наук, доц., Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия

А.Д. Калмыкова (секретарь) – Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия

Н.И. Акберова – канд. биол. наук, ст. науч. сотр., Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия

И.С. Антипин – д-р хим. наук, проф., чл.-корр. РАН, Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия

А.С. Борисов – д-р геол.-минерал. наук, проф., Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия

Г.К. Будников – д-р хим. наук, проф., Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия

О.П. Ермолаев – д-р геогр. наук, проф., Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия

А.А. Варнек – канд. хим. наук, д-р теоретической химии, проф., Страсбургский университет, г. Страсбург, Франция

Р.И. Жданов – д-р хим. наук, проф., Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия

И.Б. Ившина – д-р биол. наук, акад. РАН, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь, Россия

С.В. Костров – д-р биол. наук, проф., чл.-корр. РАН, Институт молекулярной генетики РАН, г. Москва, Россия

Я. Лабуда – д-р наук, проф., Словацкий технологический университет в Братиславе, г. Братислава, Словацкая Республика

М. Либонати – д-р мед. наук, почётный проф., Университет Вероны, г. Верона, Италия

В.Н. Майстренко – д-р хим. наук, проф., Башкирский государственный университет, г. Уфа, Россия

В.В. Малахов – д-р биол. наук, акад. РАН, Московский государственный университет, г. Москва, Россия

А.И. Мелентьев – д-р биол. наук, проф., Институт биологии УНЦ РАН, г. Уфа, Россия

Д.К. Нуралиев – д-р геол.-минер. наук, проф., Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия

А.А. Паутов – д-р биол. наук, проф., Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, Россия

Ю.П. Переведенцев – д-р геогр. наук, проф., Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия

Р.М. Сабиров – канд. биол. наук, доц., Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия

С.Ю. Селивановская – д-р биол. наук, проф., Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия

В.В. Силантiev – д-р геол.-минер. доцент, Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия

О.Г. Сияншин – д-р хим. наук, акад. РАН, Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова ФИЦ КазНЦ РАН, г. Казань, Россия

Р.Н. Хазипов – д-р мед. наук, Средиземноморский институт нейробиологии, г. Марсель, Франция; Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия

Р.Р. Хасанов – д-р геол.-минерал. наук, доц., Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия

Ф. Хеллер – д-р наук, почётный проф., Швейцарская высшая техническая школа Цюриха, г. Цюрих, Швейцария

К. Ясуи – д-р наук, проф., Университет Хиросимы, г. Хиросима, Япония

Редактор английского текста *А.О. Кармазина*

Учредитель и издатель: ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»

Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций
Свидетельство о регистрации ПИ № ФС77-41874 от 27 августа 2010 г.

Журнал реферируется/индексируется в Scopus, DOAJ, EBSCO, eLIBRARY.RU, Emerging Sources Citation Index, Google Scholar, CAB Abstracts and Global Health, CAS Source Index, GeoRef, Ulrich's Periodicals Directory, WorldCat, КиберЛенинка

Подписной индекс 19422. Цена свободная

Адрес издателя и редакции «Ученые записки Казанского университета»: 420008, г. Казань, ул. Кремлевская, д. 18
Телефон: (843) 233-73-01; e-mail: uz.ku@kpfu.ru; сайт: <https://uzakuesc.elpub.ru>

Дата выхода в свет 11.03.2024. Формат 70×108/16.
Бумага офсетная. Усл. печ. л. 14,90.
Уч.-изд. л. 13,32. Тираж 300 экз. Заказ 100/2

Отпечатано в типографии Издательства
Казанского университета
420008, Казань, ул. проф. Нужина, д. 1/37

Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta.

Seriya Estestvennye Nauki [Proceedings of Kazan University. Natural Sciences Series]

Peer-Reviewed Scientific Journal

2024
Vol. 166,
no. 1

UCHENYE ZAPISKI KAZANSKOGO UNIVERSITETA FOUNDED IN 1834

Editorial Board

Editor-in-Chief

Dmitrii A. Tayurskii – Doctor of Physics and Mathematics, Professor, Kazan Federal University, Kazan, Russia

Members of Editorial Board

Guzel K. Ziyatdinova (Deputy Editor-in-Chief) – Doctor of Chemistry, Associate Professor, Kazan Federal University, Kazan, Russia

Alena D. Kalmykova (Secretary) – Kazan Federal University, Kazan, Russia

Natalya I. Akberova – PhD in Biology, Associate Professor, Senior Research Fellow, Kazan Federal University, Kazan, Russia

Igor S. Antipin – Doctor of Chemistry, Professor, Corresponding Member of Russian Academy of Sciences, Kazan Federal University, Kazan, Russia

Anatolij S. Borisov – Doctor of Geology and Mineralogy, Professor, Kazan Federal University, Kazan, Russia

Herman C. Budnikov – Doctor of Chemistry, Professor, Kazan Federal University, Kazan, Russia

Oleg P. Ermolaev – Doctor of Geography, Professor, Kazan Federal University, Kazan, Russia

Renad I. Zhdanov – Doctor of Chemistry, Professor, Kazan Federal University, Kazan, Russia

Friedrich Heller – Doctor of Science, Professor Emeritus, Swiss Federal Institute of Technology in Zürich, Zürich, Switzerland

Irina B. Ivshina – Doctor of Biology, Member of Russian Academy of Sciences, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of Russian Academy of Sciences, Perm, Russia

Rinat R. Khasanov – Doctor of Geology and Mineralogy, Associate Professor, Kazan Federal University, Kazan, Russia

Roustem N. Khazipov – Doctor of Medicine, Mediterranean Institute of Neurobiology, Marseille, France; Kazan Federal University, Kazan, Russia

Sergey V. Kostrov – Doctor of Biology, Professor, Corresponding Member of Russian Academy of Sciences, Institute of Molecular Genetics of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Jan Labuda – Doctor of Science, Professor, Slovak University of Technology in Bratislava, Bratislava, Slovak Republic

Massimo Libonati – Doctor of Medicine, Emeritus Professor, Verona University, Verona, Italy

Valerij N. Maistrenko – Doctor of Chemistry, Professor, Bashkir State University, Ufa, Russia

Vladimir V. Malakhov – Doctor of Biology, Member of Russian Academy of Sciences, Moscow State University, Moscow, Russia

Aleksandr I. Melentiev – Doctor of Biology, Professor, Institute of Biology, Ufa Research Center of Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia

Danis K. Nurgaliev – Doctor of Geology and Mineralogy, Professor, Kazan Federal University, Kazan, Russia

Anatolii A. Pautov – Doctor of Biology, Professor, Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

Jurij P. Perevedentsev – Doctor of Geography, Professor, Kazan Federal University, Kazan, Russia

Rushan M. Sabirov – PhD in Biology, Associate Professor, Kazan Federal University, Kazan, Russia

Svetlana Ju. Selivanovskaya – Doctor of Biology, Professor, Kazan Federal University, Kazan, Russia

Vladimir V. Silantev – Doctor of Geology and Mineralogy, Associate Professor, Kazan Federal University, Kazan, Russia

Oleg G. Sinyashin – Doctor of Chemistry, Member of Russian Academy of Sciences, Arbuzov Institute of Organic and Physical Chemistry, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

Alexandre Varnek – PhD in Chemistry, Professor, Habilitation in Theoretical Chemistry, University of Strasbourg, Strasbourg, France

Kinya Yasui – Doctor of Science, Professor, Hiroshima University, Hiroshima, Japan

English Editor: *A.O. Karmazina*

Founder and Publisher: Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "Kazan (Volga Region) Federal University"

The journal is registered by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technologies and Mass Media

Registration certificate PI No. FS77-41874 dated August 27, 2010

The journal is abstracted and/or indexed in Scopus, DOAJ, EBSCO, eLIBRARY.RU, Emerging Sources Citation Index, Google Scholar,

CAB Abstracts and Global Health, CAS Source Index, GeoRef, Cyberleninka, Ulrich's Periodicals Directory, WorldCat

Subscription index: 19422. Free price

Contacts: Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta, ul. Kremlevskaya 18, Kazan, 420008 Russia

Phone: (843) 233-73-01; e-mail: uz.ku@kpfu.ru; website: <https://uzakuesc.elpub.ru>

Date of publication: March 11, 2024. Page size: 70×108/16.
Offset printing. Conventional printing sheet: 14,90. Publisher's
signature: 13.32. Circulation: 300 copies. Order: 100/2

Printed in KFU Publishing House
ul. Prof. Nuzhina 1/37, Kazan, 420008 Russia

СОДЕРЖАНИЕ

<i>Пьянкова А.А., Плотникова Е.Г.</i> Галотолерантные бактерии-деструкторы бензойной кислоты рода <i>Dietzia</i>	5
<i>Насонов А.И., Якуба Г.В., Бардак М.В., Астапчук И.Л., Марченко Н.А.</i> Характеристика приспособленности устойчивых и чувствительных к фунгицидам изолятов <i>Venturia inaequalis in vitro</i>	23
<i>Антонова Е.И., Омарова Д.И., Фирсова Н.В., Красникова К.А.</i> Роль клеток-предшественников печени амфибий вида <i>Rana terrestris</i> в постэмбриональном развитии в условиях физиологической нормы	38
<i>Столповская Е.В., Суховнина В.О., Жданова Г.О., Бархатова О.А., Стом А.Д., Саксонов М.Н., Купчинский А.Б., Лозовая Т.С., Толстой М.Ю., Филиппова С.Н., Стом Д.И.</i> Комбинированное действие Mn(II) и резорцина на ряску	66
<i>Глазунова Д.М., Галицкая П.Ю., Селивановская С.Ю.</i> Секвестрация углерода атмосферы с использованием микроводорослей	82
<i>Буряк Ж.А., Крымская О.В., Крымская А.А., Терехин Э.А.</i> Пространственно-временная изменчивость биоклиматического потенциала Центрального Черноземья	126
<i>Муравьев Ф.А., Кропотова Т.В., Гареев Б.И., Баталин Г.А.</i> Педокомплексы уржумских отложений Казанского Поволжья (Восточная Европа): пример палеоклимата и палеоландшафтов субтропиков континентальной Пангеи в средней перми	145
<i>Татаркин А.В., Красильников П.А.</i> Температурный фактор при выделении зон субквальной разгрузки приповерхностных вод	169

CONTENTS

<i>Pyankova A.A., Plotnikova E.G.</i> Halotolerant benzoic acid-degrading bacteria of the genus <i>Dietzia</i>	5
<i>Nasonov A.I., Yakuba G.V., Bardak M.V., Astapchuk I.L., Marchenko N.A.</i> <i>In Vitro</i> study of fitness parameters in fungicide-resistant and -sensitive <i>Venturia inaequalis</i> isolates.....	23
<i>Antonova E.I., Omarova D.I., Firsova N.V., Krasnikova K.A.</i> The role of liver progenitor cells in postembryonic development of <i>Rana terrestris</i> under normal physiological conditions.....	38
<i>Stolpovskaya E.V., Sukhovnina V.O., Zhdanova G.O., Barkhatova O.A., Stom A.D., Saksonov M.N., Kupchinsky A.B., Lozovaya T.S., Tolstoy M.Yu., Filippova S.N., Stom D.I.</i> Combined effect of Mn(II) and resorcinol on duckweed.....	66
<i>Glazunova D.M., Galitskaya P.Yu., Selivanovskaya S.Yu.</i> Atmospheric carbon sequestration using microalgae.....	82
<i>Buryak Zh.A., Krymskaya O.V., Krymskaya A.A., Terekhin E.A.</i> Spatiotemporal variability of the bioclimatic potential in the Central Chernozem region.....	126
<i>Mouraviev F.A., Kropotova T.V., Gareev B.I., Batalin G.A.</i> Urzhumian pedocomplexes of the Kazan Volga region (Eastern Europe): An example of paleoclimate and paleolandscapes of the subtropics of the continental Pangea in the Middle Permian.....	145
<i>Tatarkin A.V., Krasilnikov P.A.</i> The temperature factor in selecting the areas of subaqueous discharge of near-surface water.....	169

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

УДК 579.26+579.222

doi: 10.26907/2542-064X.2024.1.5-22

ГАЛОТОЛЕРАНТНЫЕ БАКТЕРИИ-ДЕСТРУКТОРЫ БЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТЫ РОДА *Dietzia*

А.А. Пьянкова, Е.Г. Плотникова

Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения
Российской академии наук – филиал ПФИЦ УрО РАН, г. Пермь, 614081, Россия

Аннотация

Проведены исследования шести штаммов-деструкторов бензойной кислоты рода *Dietzia*, изолированных из засоленных экотопов, расположенных на территории солеразработок Верхнекамского и Якшинского месторождений (Пермский край, Республика Коми, Россия). Бензойная кислота (БК) может накапливаться в экосистемах в результате техногенных процессов, а также при микробиологическом разложении сложных органических соединений, содержащих ароматическое кольцо. Установлено, что исследуемые штаммы близкородственны видам *D. psychrhalcaliphila*, *D. kunjamensis* subsp. *kunjamensis*, *D. cercidiphylli* и *D. maris*. Штаммы являются галотолерантными организмами, способными использовать БК в качестве единственного источника углерода и энергии как в отсутствие соли, так и в присутствии 50–70 г/л NaCl. В штаммах выявлены *benA*-гены, кодирующие α -субъединицу бензоат 1,2-диоксигеназы – ключевого фермента разложения БК. Нуклеотидные последовательности генов *benA* исследуемых штаммов имеют наибольшее сходство (79.32–91.38%) с гомологичными последовательностями представителей класса *Actinomycetes* (родов *Dietzia*, *Mycolicibacterium*, *Geodermatophilus*, *Pseudonocardia*, *Corynebacterium*, *Raineyella*). Охарактеризованные активные деструкторы БК рода *Dietzia* могут быть использованы при разработке технологий биоремедиации загрязненных моно(поли)ароматическими поллютантами объектов окружающей среды, подверженных засолению.

Ключевые слова: месторождение калийно-магниевых солей, галотолерантные бактерии, *Dietzia*, бензойная кислота, гены 16S рРНК, *benA*.

Введение

Представители рода *Dietzia* (семейство *Dietziaceae*, класс *Actinomycetes*) являются широко распространенными бактериями, изолированными из почв (в том числе пустыни Египта и холодной пустыни Гималаев), воздуха, содового озера и морской воды, с поверхности растений, соленых пищевых продуктов, сточных вод, а также клинических образцов человека [1, 2]. В настоящее время род *Dietzia*, по данным базы List of prokaryotic names with standing in nomenclature [3], включает 12 видов. Бактерии рода *Dietzia* применяются в медицинской, химической, пищевой и ряде других отраслей промышленности, перспективны как потенциальный источник ферментов для использования в промышленной ферментации как источник каротиноидных пигментов, а также в качестве

основных бактерий-деструкторов органических поллютантов при биоремедиации загрязненных почв и сточных вод [1].

Представители рода *Dietzia* являются одними из наиболее часто упоминаемых в научной литературе бактерий, способных разлагать алифатические и ароматические углеводороды, а также более сложные органические соединения, являющиеся стойкими загрязнителями окружающей среды [4, 5, 6]. Известно, что промежуточным продуктом разложения многих ароматических соединений (фенола, толуола, бифенила, фталатов и др.) является бензойная кислота (БК) [7, 8]. Накопление БК в окружающей среде связано как с метаболической активностью микроорганизмов и растений, так и с промышленной деятельностью человека. Так, БК и ее производные применяются как сырье в синтезе ряда химических соединений, в качестве консерванта пищевых продуктов, в медицине и парфюмерной промышленности [9]. Данные о способности использовать БК в качестве единственного источника углерода и энергии бактериями рода *Dietzia* в научной литературе крайне ограничены [10].

Ранее бактерии рода *Dietzia* были выделены из подземных и надземных экотопов района добычи и переработки калийно-магниевых солей (Верхнекамское и Якшинское месторождения солей) [11, 12]. Поскольку в образцах засоленных почв, шламов, рассолов, из которых были выделены бактерии, помимо высокого уровня засоления выявлен широкий спектр органических поллютантов, в том числе ароматических соединений [13, 14], можно предположить, что бактерии рода *Dietzia*, изолированные из техногенно засоленных экотопов, способны осуществлять разложение БК.

Цель настоящей работы – физиолого-экологическая и генетическая характеристика бактерий-деструкторов бензойной кислоты рода *Dietzia*, выделенных из района солеразработок Верхнекамского (Пермский край) и Якшинского (Республика Коми) месторождений.

1. Материалы и методы

1.1. Объекты исследований. Для исследования были отобраны бактерии рода *Dietzia*, выделенные ранее из образцов соляных пород, почвы/грунта около солевывалов, донных отложений шламохранилищ, расположенных в районе промышленных разработок Верхнекамского месторождения солей (Пермский край), а также из рассола скважины Якшинского месторождения (Республика Коми) (табл. 1).

1.2. Физиолого-экологическая характеристика. Для определения устойчивости к высоким концентрациям NaCl бактерии высевали на агаризованную богатую среду Раймонда (БСР) [11] как без добавления соли, так и при концентрации NaCl до 150 г/л. Бактерии культивировали при температуре 28 °С в течение 2 недель. Рост бактерий оценивали по появлению и размеру колоний.

Рост бактерий при различных значениях pH определяли при концентрации 30 г/л NaCl. Штаммы культивировали на агаризованной среде БСР при pH 7.0, а также на модифицированной среде Пфеннига (г/л): NH_4Cl – 0.5, K_2HPO_4 – 0.5, MgCl_2 – 0.5, CaCl_2 – 0.05, NaCl – 30, дрожжевой экстракт – 0.5, пептон – 5, агар – 15, pH 9.5 [15]. Рост учитывали на седьмые сутки культивирования.

Для оценки роста при различных температурах штаммы культивировали на агаризованной БСР (30 г/л NaCl) при 4, 28, 35 и 40 °С. Рост учитывали на седьмые сутки культивирования.

Табл. 1

Местообитание и идентификация штаммов рода *Dietzia*

Штамм	Ближайший типовой штамм по гену 16S рРНК из базы данных EzBioCloud	Сходство, %*	Образец выделения	Ссылка
Верхнекамское месторождение солей				
YKS72R1	<i>D. cinnamea</i> IMMIB RIV-399 ^T	99.60	Каменная соль, глубина 411.5–411.6 м	н. р.
BFL18	<i>D. psychralcaliphila</i> JCM 10987 ^T	99.45	Грунт, 1 м от шламоохранилища	н. р.
PMK9(8)	<i>D. psychralcaliphila</i> JCM 10987 ^T	99.56	Грунт, 0.5 м от рассолосборника	н. р.
CXP24	<i>D. kunjamensis</i> subsp. <i>kunjamensis</i> DSM 44907 ^T	100	Донные отложения, техногенный щелочной водоем, г. Березники	[12]
CXP37	<i>D. cercidiphylli</i> YIM 65002 ^T	99.89	Донные отложения, техногенный щелочной водоем, г. Березники	н. р.
BNL4	<i>D. maris</i> DSM 43672 ^T	100	Грунт, 0.1 м от шламоохранилища	н. р.
NDT10	<i>D. maris</i> DSM 43672 ^T <i>D. kunjamensis</i> subsp. <i>kunjamensis</i> DSM 44907 ^T	99.89	Ризосфера ежи сборной (<i>Dactylis glomerata</i> L.), 3 м от солеотвала, г. Соликамск	н. р.
Якшинское месторождение солей				
YM18	<i>D. psychralcaliphila</i> JCM 10987 ^T	100	Рассол из скважины	[11]
YM9	<i>D. maris</i> DSM 43672 ^T , <i>D. kunjamensis</i> subsp. <i>kunjamensis</i> DSM 44907 ^T	99.89	Рассол из скважины	[11]

Обозначения: н. р. – настоящая работа, * – сходство (%) указано на основе сравнения нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК изучаемого штамма и ближайших валидных типовых штаммов из базы данных EzBioCloud.

1.3. Способность штаммов к росту на бензойной кислоте проверяли при культивировании в минеральной среде Раймонда (MCP) [16] с добавлением 30 г/л NaCl и БК до конечной концентрации 1 г/л. Культивирование проводили на шейкере Environmental Shaker – Incubator ES-20/60 (“Biosan”, Латвия) при температуре 28 °С и скорости вращения 140 об/мин в течение 14 сут. Оптическую плотность (A_{600}) культуральной жидкости измеряли на спектрофотометре UV-Visible BioSpec-mini (“Shimadzu”, Япония) при длине волны 600 нм в кювете с длиной оптического пути 1 см.

Удельную скорость роста (μ , ч⁻¹) рассчитывали по стандартной формуле:

$$\mu = \frac{\ln A_2 - \ln A_1}{t_2 - t_1},$$

где A_1 и A_2 – оптические плотности культуры в моменты времени t_1 и t_2 соответственно [17].

1.4. ДНК-типирование штаммов бактерий проводили методом ВОХ-ПЦР [18] на приборе C1000 Touch™ Thermal Cycler (“Bio-Rad Laboratories”, США). Для визуализации ПЦР-продуктов проводили электрофорез в горизонтальном 2%-ном агарозном геле в 1х буфере ТБЭ (трис-борат-ЭДТА) (трис («Хеликон», Россия) – 10.8 г/л, борная кислота («Химпродукт», Россия) – 5.5 г/л, ЭДТА («Хеликон», Россия) – 4 мл/л, вода дистиллированная – 79.7 мл/л) в течение 1.5 ч при комнатной температуре и напряжении 5–15 В/см. Полученные фрагменты анализировали после окрашивания агарозного геля раствором бромистого этидия (0.5 мкг/мл) в течение 5–10 мин и фотографирования в УФ-свете с помощью системы гельдокументирования BioDocAnalyze (“Bio-Rad Laboratories”, США). Размеры полученных фрагментов определяли с помощью маркера длин ДНК 100+ bp DNA Ladder («Евроген», Россия).

1.5. Выделение ДНК из клеток исследуемых штаммов. Единичную колонию чистой культуры бактерий при помощи микробиологической петли помещали в микропробирку «Эппендорф», содержащую 100 мкл 0.05 М NaOH. Микропробирки нагревали в течение 15 мин при температуре 95 °С, затем охлаждали в течение 20 мин при температуре –20 °С. Данную процедуру повторяли четыре раза.

1.6. Амплификация, секвенирование и анализ гена 16S рРНК. Фрагменты гена 16S рРНК амплифицировали с применением универсальных бактериальных праймеров 27F и 1492R [19] на приборе C1000 Touch™ Thermal Cycler (“Bio-Rad Laboratories”, США). Определение нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК осуществляли с применением набора реактивов Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit на автоматическом секвенаторе Genetic Analyser 3500XL (“Applied Biosystem”, США) согласно рекомендациям производителя. Филогенетический анализ полученных нуклеотидных последовательностей проводили с использованием программ Sequence Scanner v. 2.0., MEGA 7.0 [20]. Поиск гомологичных последовательностей осуществляли при использовании баз данных EzBioCloud [21], GenBank [22], Integrated Microbial Genomes and Microbiomes (IMG) [23]. Множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей и построение филогенетических деревьев проводили с использованием программы MEGA 7.0.

Нуклеотидные последовательности гена 16S рРНК исследуемых штаммов рода *Dietzia* депонированы в базе данных GenBank под номерами MW077883, MW077876, ON527781, OP787982-OP787987.

1.7. ПЦР, секвенирование и филогенетический анализ гена *benA*. Амплификацию фрагмента гена *benA* (длиной 521 п.н.), кодирующего α -субъединицу бензоат 1,2-диоксигеназы, проводили при использовании праймеров *benA*-F (5'-GCCACGAGAGCCAGATTC3') и *benA*-R (5'-GGTGGCGCGTAGTTCAGTG-3'), как описано в работе [24]. В качестве положительного контроля использовали ДНК штамма-деструктора бензойной кислоты *Rhodococcus wratislaviensis* KT112-7 [25].

Секвенирование и филогенетический анализ гена *benA* проводили, как описано выше (см. раздел 1.6). Нуклеотидные последовательности генов *benA* депонированы в базе данных GenBank под номерами OP824730, OP824731.

1.8. Статистический анализ данных. При статистической обработке результатов исследования рассчитывали среднее арифметическое и стандартное отклонение трех независимых экспериментов, используя встроенные функции Microsoft Office Excel 2007.

2. Результаты и их обсуждение

2.1. Таксономическая характеристика бактерий рода *Dietzia*. Штаммы рода *Dietzia*, выделенные из района солеразработок (табл. 1), на агаризованной БСР формировали округлые блестящие непрозрачные колонии размером 2–3 мм, с ровным краем, гладкой поверхностью, выпуклым профилем, однородной структурой и мягкой консистенцией. Цвет колоний штаммов варьировал от ярко-оранжевого до кораллово-красного.

У нескольких штаммов было уточнено таксономическое положение (табл. 1). В результате сравнения нуклеотидных последовательностей гена 16S рПНК (длиной 729–935 п.н.) исследуемых бактерий и типовых штаммов рода *Dietzia* показано, что штаммы филогенетически близки видам *D. cinnamea*, *D. psychralcaliphila*, *D. maris*, *D. kunjamensis* subsp. *kunjamensis*, *D. cercidiphylli*, представители которых были изолированы из разных местообитаний (табл. 1, рис. 1).

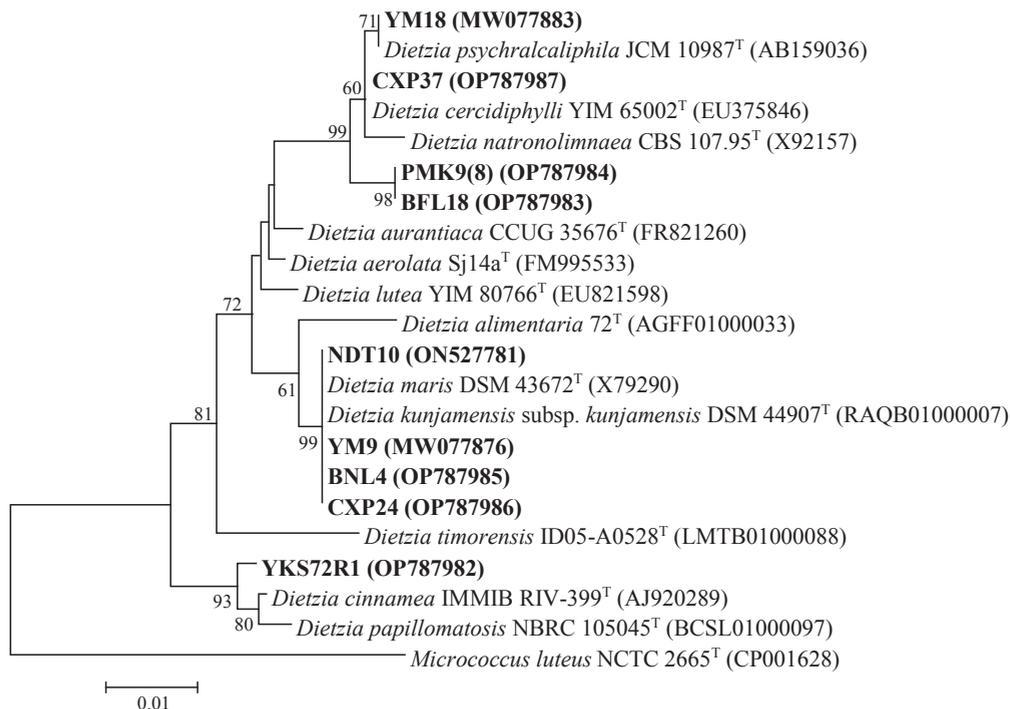


Рис. 1. Филогенетическое дерево, построенное с использованием метода “neighbor-joining”, показывающее положение исследуемых изолятов в роде *Dietzia*, основанное на сравнении нуклеотидных последовательностей гена 16S рПНК. Эволюционные расстояния рассчитаны с использованием метода “Jukes-Cantor”. Масштаб соответствует 1 нуклеотидной замене на каждые 100 нуклеотидов. Цифрами показана статистическая достоверность порядка ветвления, определенная с помощью “bootstrap”-анализа 1000 альтернативных деревьев (приведены значения выше 50%). В скобках указаны номера в базе данных GenBank. В качестве внешней группы использована последовательность гена 16S рПНК типового штамма вида *Micrococcus luteus*

Из экотопов Верхнекамского месторождения выделены бактерии, близкородственные всем вышеперечисленным видам. Из рассолов скважины (карналлит, глубина залегания – 412.6–416.0 м) Якшинского месторождения выделены штаммы, близкородственные виду *D. psychralcaliphila* (100% сходства с типовым штаммом), а также видам *D. maris* и *D. kunjomensis* subsp. *kunjomensis* (99.89% сходства с типовыми штаммами).

На филогенетическом дереве представлено положение исследуемых штаммов в системе рода *Dietzia* (рис. 1).

Анализ профилей продуктов амплификации, полученных методом ВОХ-ПЦР, исследуемых изолятов показал, что все штаммы проявляют генетическую гетерогенность и обладают уникальными ВОХ-профилями (рис. 2).

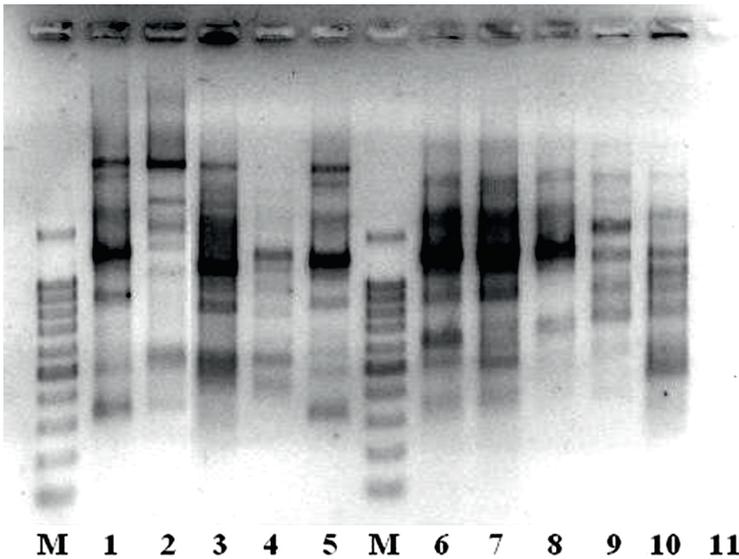


Рис. 2. Электрофореграмма продуктов амплификации ВОХ-ПЦР штаммов рода *Dietzia*: М – маркер длин ДНК 100+ bp DNA Ladder; штаммы: 1 – YKS72R1, 2 – BFL18, 3 – РМК9(8), 4 – YM18, 5 – BNL4, 6 – NDT10, 7 – YM9, 8 – СХР24, 9 – СХР37, 10 – *Rhodococcus wratislaviensis* КТ112-7, 11 – отрицательный контроль

Результаты исследований показали, что бактерии рода *Dietzia* разных видов широко распространены в засоленных экотопах районов добычи и переработки калийно-магниевых солей (Пермский край и Республика Коми), и, кроме того, штаммы, филогенетически близкие одному виду, демонстрировали уникальные профили генома (ВОХ-профили).

2.2. Эколого-физиологические характеристики бактерий. Исследована способность штаммов расти в условиях повышенной минерализации среды. Установлено, что большинство культур способны к эффективному росту как в отсутствии NaCl в среде культивирования, так и при концентрации соли до 100 г/л, за исключением штаммов NDT10 и СХР37, которые растут в присутствии до 70 г/л NaCl. *Dietzia* spp. YKS72R1, YM9, РМК9(8) и BFL18 способны к росту при содержании 150 г/л NaCl в среде (табл. 2). Согласно классификации Кашнера, штаммы являются галотолерантными микроорганизмами [26]. В целом, полученные результаты согласуются с литературными данными, однако типовые штаммы видов *D. cinnamea* [27] и *D. psychralcaliphila* [28] растут на среде

с более низким содержанием соли (120 и 100 г/л соответственно), чем близкородственные им штаммы YKS72R1, BFL18 и РМК9(8) (табл. 2).

Табл. 2

Рост штаммов рода *Dietzia* при различных концентрациях NaCl и температурах

Штамм	Содержание NaCl, г/л							Диапазон температур, °С
	0	30	50	70	100	125	150	
YKS72R1	+++	+++	+++	+++	+	+	+	4–37
BFL18	+++	+++	++	++	++	++	+	4–37
РМК9(8)	+++	+++	+++	+++	++	++	+	4–37
CXP24	+++	+++	+++	+++	+	–	–	4–37
CXP37	+++	+++	+++	+++	+	+	–	4–37
BNL4	+++	+++	+++	+++	+	–	–	10–37
NDT10	+++	+++	+++	+++	–	–	–	4–37
YM18	++	+++	+++	+++	+	–	–	4–37
YM9	+++	+++	+++	+++	+	+	+	4–37

Обозначения: «+» – диаметр колоний до 2 мм, «++» – диаметр колоний 2–4 мм, «+++» – диаметр колоний 5 мм и выше; «–» – отсутствие роста бактерий.

Все исследуемые штаммы показывали активный рост на среде БСР при pH 7.0, а также на среде Пфеннига при pH 9.5. При исследовании способности штаммов расти при разной температуре выявлено, что все штаммы растут на БСР при 4–37 °С, за исключением штамма BNL4, который растет в диапазоне температур 10–37 °С.

2.3. Биодegradационные свойства бактерий. Многие из описанных в научной литературе штаммов рода *Dietzia* осуществляют разложение алифатических и ароматических углеводов [29–32]. Способность использовать бензоат в качестве единственного источника углерода и энергии установлена для одного штамма рода, *Dietzia* sp. TA1, изолированного из термитника [10].

Результаты наших исследований показали, что шесть из девяти штаммов, близкородственных видам *D. psychrocaliphila*, *D. cercidiphylli*, *D. maris* и *D. kunjomensis* subsp. *kunjomensis*, способны использовать в качестве ростового субстрата бензойную кислоту (табл. 3).

Так как штаммы были выделены из образцов с повышенным уровнем засоления, была исследована их способность использовать БК в качестве ростового субстрата при различных концентрациях NaCl в среде культивирования. Все деструкторы БК демонстрировали активный рост в среде без содержания NaCl, пять штаммов, кроме штамма YM18, росли при 50 г/л NaCl. Штаммы NDT10 и РМК9(8) были способны к росту на МСР с БК при 70 г/л NaCl. В присутствии 100 г/л соли рост бактерий на МСР с БК не был выявлен (табл. 3). На рис. 3 приведены кривые роста активного деструктора *Dietzia* sp. NDT10 на МСР с БК при различных концентрациях NaCl.

У штаммов BFL18 и YM18 наблюдалось увеличение длительности лаг-фазы до 216 ч (9 сут) и 264 ч (11 сут) с увеличением концентрации NaCl до 50 г/л и 30 г/л в среде соответственно. Однако величины максимальной A_{600} и удельной

скорости роста оставались сходными как при выращивании в среде без добавления хлорида натрия, так и при повышенных концентрациях NaCl (табл. 3).

Табл. 3

Параметры роста штаммов рода *Dietzia* на МСР с БК (1 г/л) при различных концентрациях хлорида натрия

Параметры роста	Концентрация NaCl в среде, г/л			
	0	30	50	70
Штамм BFL18				
μ , ч ⁻¹	0.012 ± 0.002	0.01 0± 0.001	0.014 ± 0.002	–
A_{600}	1.19	1.09	1.19	–
Лаг-фаза роста, ч	72	96	264	–
Штамм РМК9(8)				
μ , ч ⁻¹	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.004 ± 0.002
A_{600}	0.60	0.43	0.32	0.34
Лаг-фаза роста, ч	72	72	96	168
Штамм УМ18				
μ , ч ⁻¹	0.012 ± 0.002	0.018 ± 0.002	–	–
A_{600}	1.07	1.07	–	–
Лаг-фаза роста, ч	96	216	–	–
Штамм NDT10				
μ , ч ⁻¹	0.013 ± 0.002	0.023 ± 0.003	0.011 ± 0.002	0.006 ± 0.001
A_{600}	1.16	0.99	0.96	1.07
Лаг-фаза роста, ч	96	168	264	360
Штамм СХР24				
μ , ч ⁻¹	0.009 ± 0.002	0.019 ± 0.003	0.008 ± 0.002	–
A_{600}	1.24	1.10	0.97	–
Лаг-фаза роста, ч	72	216	264	–
Штамм СХР37				
μ , ч ⁻¹	0.013 ± 0.002	0.018 ± 0.003	0.008 ± 0.002	–
A_{600}	1.11	1.14	1.16	–
Лаг-фаза роста, ч	96	168	216	–

Обозначение: «–» – рост культуры отсутствовал.

Штамм РМК9(8) способен расти на МСР с БК при концентрации NaCl до 70 г/л. Наиболее эффективный рост штамм демонстрировал при выращивании на МСР с БК без хлорида натрия. По мере увеличения концентрации NaCl в среде происходило увеличение продолжительности лаг-фазы и снижение максимальной A_{600} . Величина удельной скорости роста не изменялась. У штаммов NDT10, СХР24, СХР37 также наблюдалось увеличение длительности лаг-фазы при повышении концентрации хлорида натрия. Интересно, что при концентрации NaCl 30 г/л у данных штаммов зарегистрирована наивысшая удельная скорость роста по сравнению с ростом на средах с другими концентрациями хлорида натрия. В

то же время, величины максимальной A_{600} сходны при культивировании на среде без добавления соли и при повышенных концентрациях NaCl (табл. 3).

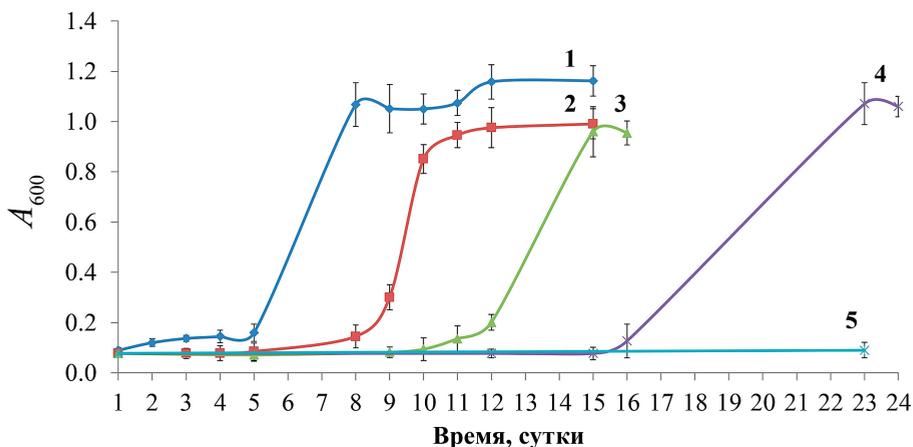


Рис. 3. Рост штамма *Dietzia* sp. NDT10 на МСР с БК при различных концентрациях NaCl (г/л): 1 – 0; 2 – 30; 3 – 50; 4 – 70; 5 – 100

2.4. Амплификация, секвенирование и анализ гена *benA*. Проведена амплификация гена *benA*, кодирующего α -субъединицу бензоат 1,2 диоксигеназы – ключевого фермента деструкции бензойной кислоты [33]. С использованием праймеров [24] гены *benA* были выявлены у пяти из шести штаммов-деструкторов БК рода *Dietzia* (рис. 4).

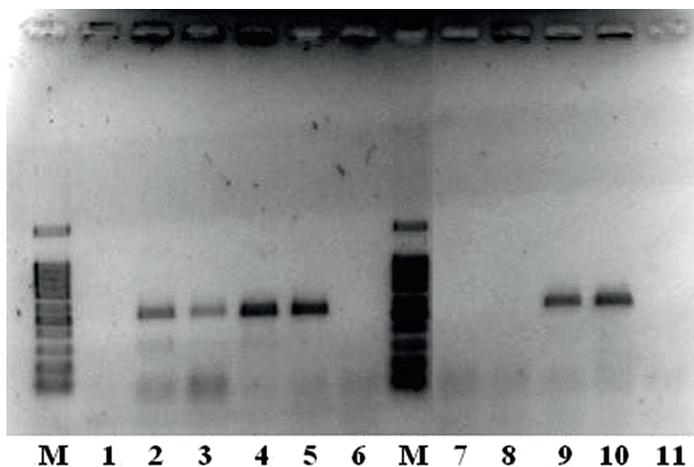


Рис. 4. Электрофореграмма продуктов амплификации гена *benA*: М – маркер длин ДНК 100+ bp DNA Ladder; штаммы: 1 – YKS72R1, 2 – BFL18, 3 – NDT10, 4 – РМК9(8), 5 – YМ18, 6 – BNL4, 7 – YМ9, 8 – СХР24, 9 – СХР37, 10 – *Rhodococcus wratislaviensis* КТ112-7 (положительный контроль), 11 – отрицательный контроль

У штамма СХР24, показывающего активный рост на МСР с БК в качестве ростового субстрата (табл. 3), ген *benA* не был обнаружен, что можно объяснить наличием в геноме штамма СХР24 отличных от присутствующих в других штаммах генов, ответственных за разложение БК. Также гены не были выявлены у штаммов, не растущих на МСР с БК (рис. 4).

Анализ 28 геномов бактерий рода *Dietzia*, представленных в базе данных IMG (Integrated Microbial Genomes and Microbiomes), показал, что в 14 геномах присутствует ген *benA* [23]. Эти данные указывают на то, что не во всех геномах бактерий рода *Dietzia* присутствует данный ген, что совпадает с результатами, представленными в настоящей работе (рис. 4).

Проведены секвенирование и анализ амплифицированных *benA*-генов штаммов-деструкторов. Сравнение *benA*-генов штаммов BFL18 и РМК9(8) с гомологичными последовательностями из базы данных GenBank [22] показало, что наибольшее сходство (на уровне 89.38–91.38%) сравниваемые последовательности имеют с геном α -субъединицы бензоат 1,2-диоксигеназы типового штамма вида *Dietzia psychralcaliphila* [28]. Интересен факт, что с данным типовым штаммом изоляты BFL18 и РМК9(8) наиболее сходны и по гену 16S рРНК (табл. 1, рис. 1). На филогенетическом дереве транслированных аминокислотных последовательностей (ТАП) штаммы BFL18 и РМК9(8) формируют кластер с *D. psychralcaliphila* ILA-1^T, со штаммами *Dietzia* sp. MeA6-2017 и *Dietzia* sp. 2505, изолированными из воды пресноводного озера (США, Вайоминг) и ризосферной почвы (США, Небраска) соответственно, а также типовым штаммом вида *Dietzia aerolata* [34] (рис. 5).

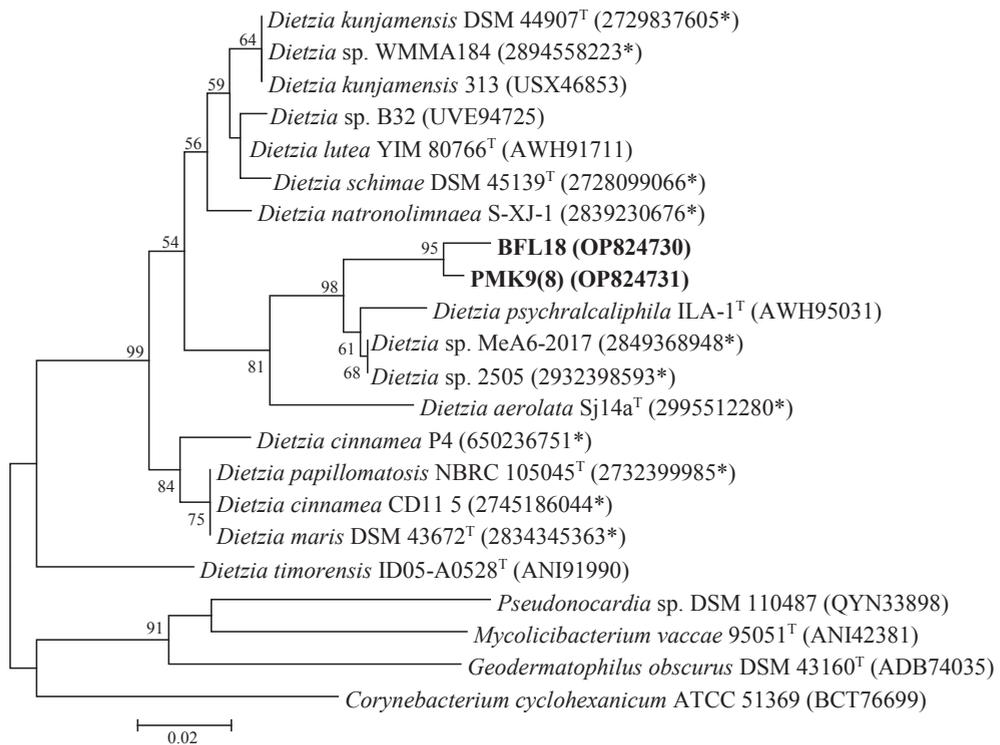


Рис. 5. Положение *benA*-генов исследуемых штаммов рода *Dietzia* на филогенетическом дереве, построенном на основании сравнительного анализа транслированных аминокислотных последовательностей *benA*-генов с использованием метода “neighbor-joining”. Эволюционные расстояния рассчитаны с использованием метода “p-distance”. Цифрами показана статистическая достоверность порядка ветвления, установленная с помощью “bootstrap”-анализа 1000 альтернативных деревьев (приведены значения выше 50%). Масштаб соответствует 2 аминокислотным заменам на каждые 100 аминокислот. В скобках указаны номера в базах данных GenBank, IMG. * – отмечены номера в базе данных IMG

Отдельный кластер на дереве формируют ТАП *benA*-генов типовых штаммов видов *Dietzia kunjamsensis*, *Dietzia lutea*, *Dietzia schimae* [35, 36, 37]. Также в данный кластер входят ТАП ряда штаммов рода *Dietzia*, изолированных из воды, кораллов и нефтезагрязненной почвы (рис. 5). Уровень сходства нуклеотидных последовательностей *benA*-генов изолятов BFL18 и РМК9(8) и штаммов, входящих в этот кластер, составлял 84.79–89.19%.

На филогенетическом дереве (рис. 5) представлен еще один кластер ТАП *benA*-генов представителей рода *Dietzia* – типовых штаммов видов *D. papillomatosis* и *D. maris*, а также двух штаммов вида *D. cinnamea*, изолированных из клинических образцов и загрязненных почв. Нуклеотидные последовательности *benA*-генов штаммов данного кластера и изолятов BFL18 и РМК9(8) имели сходство на уровне 84.41–87.99%.

Более низкий уровень сходства (79.42–82.21%) по генам *benA* штаммы BFL18 и РМК9(8) имели с типовым штаммом вида *D. timorensis*, выделенным из почвы в Индонезии [38]. На филогенетическом дереве ТАП *benA*-гена штамма *D. timorensis* ID05-A0528^T образует отдельную ветвь в кластере представителей рода *Dietzia* (рис. 5).

Нуклеотидные последовательности гена *benA* штаммов BFL18 и РМК9(8) имели сходство на уровне 79.32–83.91% с гомологичными последовательностями представителей других родов класса *Actinomycetes*, ТАП генов *benA* которых на филогенетическом дереве выделяются в отдельную группу (рис. 5).

Аmplифицированные гены *benA* деструкторов БК *Dietzia* spp. NDT10, YM18 и СХР37 также были секвенированы, однако последующий анализ показал, что на электрофореграммах присутствует наложение нуклеотидов, что может быть связано с наличием более чем одной копии гена в геномах исследуемых штаммов.

Таким образом, в рамках настоящей работы исследовано таксономическое разнообразие бактерий рода *Dietzia*, выделенных из разных экотопов, расположенных в районах промышленных солеразработок (Пермский край, Республика Коми). Выявлены бактерии рода *Dietzia* (штаммы BFL18, РМК9(8), YM18, NDT10, СХР24, СХР37), которые способны к росту на МСР с БК при повышенной солености среды. Проведен сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей ключевого гена (*benA*), участвующего на начальном этапе разложения БК, штаммов-деструкторов BFL18, РМК9(8), YM18, NDT10, СХР37 с гомологичными генами из баз данных GenBank и IMG. Показано, что наибольшее сходство (79.32–91.38%) *benA*-гены исследуемых штаммов имели с таковыми как представителей родов *Dietzia*, так и с другими бактериями класса *Actinomycetes* (родов *Mycolicibacterium*, *Geodermatophilus*, *Pseudonocardia*, *Corynebacterium*, *Raineyella*). Наличие таких генов свидетельствует о возможной деструкции БК клетками в процессе их роста на МСР с БК. Охарактеризованные в этой работе активные деструкторы БК рода *Dietzia* могут быть использованы при создании новых биотехнологий, востребованных при восстановлении засоленных почв, загрязненных токсичными органическими соединениями.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (124021900006-5).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. *Gharibzahedi S.M.T., Razavi S.H., Mousavi S.M.* Characterization of bacteria of the genus *Dietzia*: An updated review // *Ann. Microbiol.* 2014. V. 64, No 1. P. 1–11. <https://doi.org/10.1007/s13213-013-0603-3>.
2. *Olowo-Okere A., Ibrahim Y.K.E., Lo C.I., Olayinka B.O., Yimagou E.K., Yacouba A., Mohammed Y., Nabti L.Z., Ragueh A.A., Lupande D., Raoult D., Rolain J.-M., Diene S.M.* Correction to: *Bhargavaea massiliensis* sp. nov. and *Dietzia massiliensis* sp. nov., novel bacteria species isolated from human urine samples in Nigeria // *Curr. Microbiol.* 2022. V. 79, No 5. Art. 157. <https://doi.org/10.1007/s00284-022-02838-0>.
3. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature. URL: <https://lpsn.dsmz.de>.
4. *Gurav R., Lyu H., Ma J., Tang J., Liu Q., Zhang H.* Degradation of *n*-alkanes and PAHs from the heavy crude oil using salt-tolerant bacterial consortia and analysis of their catabolic genes // *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2017. V. 24, No 12. P. 11392–11403. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-8446-2>.
5. *Venil C.K., Malathi M., Devi P.R.* Characterization of *Dietzia maris* AURCCBT01 from oil-contaminated soil for biodegradation of crude oil // *3 Biotech.* 2021. V. 11, No 6. Art. 291. <https://doi.org/10.1007/s13205-021-02807-7>.
6. *Wojtowicz K., Steliga T., Kapusta P., Brzeszcz J., Skalski T.* Evaluation of the effectiveness of the biopreparation in combination with the polymer γ -PGA for the biodegradation of petroleum contaminants in soil // *Materials.* 2022. V. 15, No 2. Art. 400. <https://doi.org/10.3390/ma15020400>.
7. *Moreno M.D.L., Sanchez-Porro C., Piubeli F., Frias L., Garcia M.T., Mellado E.* Cloning, characterization and analysis of *cat* and *ben* genes from the phenol degrading halophilic bacterium *Halomonas organivorans* // *PLoS One.* 2011. V. 6, No 6. Art. e21049. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021049>.
8. *Li M., Yi P., Liu Q., Pan Y., Qian G.* Biodegradation of benzoate by protoplast fusant via intergeneric protoplast fusion between *Pseudomonas putida* and *Bacillus subtilis* // *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 2013. V. 85. P. 577–582. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.04.008>.
9. *Olmo A.D., Calzada J., Nuñez M.* Benzoic acid and its derivatives as naturally occurring compounds in foods and as additives: Uses, exposure, and controversy // *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2017. V. 57, No 14. P. 3084–3103. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1087964>.
10. *Maeda M., Roberts M.S., Ohta Y., Fuji F., Travisano M., Kudo T.* Isolation and characterization of a new aromatic compound-degrading alkalitrophic bacteria // *J. Gen. Appl. Microbiol.* 1998. V. 44, No 1. P. 101–106. <https://doi.org/10.2323/jgam.44.101>.
11. *Пьянкова А.А., Плотникова Е.Г., Шанина С.Н.* Бактериальное сообщество рассолов, извлекаемых при подземном растворении калийно-магниевых солей Якшинского месторождения (Республика Коми) // *Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки.* 2022. Т. 164, кн. 3. С. 457–474. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2022.3.457-474>.
12. *Алеев В.С., Нечаева Ю.И., Пьянкова А.А., Плотникова Е.Г.* Углекислородоокисляющие бактерии из шламохранилища промышленной зоны г. Березники (Пермский край) //

- Актуальные аспекты современной микробиологии: сборник тезисов XIII молодежной школы-конференции с международным участием. М., 2022. С. 14–17.
13. Бачурин Б.А., Одинцова Т.А. Отходы горно-обогачительного производства как источники эмиссии органических поллютантов // Горный информационно-аналитический бюллетень. 2009. № 7. С. 374–380.
 14. Шанина С.Н., Галамай А.Р., Игнатович О.О., Бурдельная Н.С., Валяева О.В. Органическое вещество соляной толщи южной части Якшинского месторождения калийно-магниевых солей // Геохимия. 2018. № 7. С. 693–708. <https://doi.org/10.1134/S0016752518070117>.
 15. Pfennig N., Biebl H. *Desulfuromonas acetoxidans* gen. nov. and sp. nov., a new anaerobic, sulfur-reducing, acetate-oxidizing bacterium // Arch. Microbiol. 1976. V. 110, No 1. P. 3–12. <https://doi.org/10.1007/BF00416962>.
 16. Raymond R.L. Microbial oxidation of n-paraffinic hydrocarbons // Dev. Ind. Microbiol. 1961. V. 2, No 1. P. 23–32. <https://doi.org/10.1038/sj.jim.2900633>.
 17. Непрусов А.И. Практикум по микробиологии. М.: Академия, 2005. 608 с.
 18. Versalovic J., Schneider M., de Bruijn F.J., Lupski J. Genomic fingerprinting of bacteria using repetitive sequence-based polymerase chain reaction // Methods Mol. Cell. Biol. 1994. V. 5, No 1. P. 25–40.
 19. Lane D.J. 16S/23S rRNA sequencing // Stackebrandt E., Goodfellow M. (Eds.) Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics. N.Y.: John Wiley and Sons, 1991. P. 115–175.
 20. Molecular Evolutionary Genetics Analysis. URL: <http://www.megasoftware.net>.
 21. EzBioCloud Database. URL: <http://www.ezbiocloud.net>.
 22. The National Center for Biotechnology Information. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>.
 23. Integrated Microbial Genomes and Microbiomes. URL: <https://img.jgi.doe.gov>.
 24. Baggi G., Bernasconi S., Zangrossi M., Cavalca L., Andreoni V. Co-metabolism of di- and trichlorobenzoates in a 2-chlorobenzoate-degrading bacterial culture: Effect of the position and number of halo-substituents // Int. Biodeterior. Biodegrad. 2008. V. 62, No 1. P. 57–64. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2007.12.002>.
 25. Егорова Д.О., Корсакова Е.С., Демаков В.А., Плотникова Е.Г. Деструкция ароматических углеводов штаммом *Rhodococcus wratislaviensis* КТ112-7, выделенным из отходов соледобывающего предприятия // Прикладная биохимия и микробиология. 2013. Т. 49, № 3. С. 267–278. <https://doi.org/10.7868/S0555109913030070>.
 26. Каушер Д. Жизнь микробов в экстремальных условиях. М.: Мир, 1981. 365 с.
 27. Yassin A.F., Hupfer H., Schaal K.P. *Dietzia cinnamea* sp. nov., a novel species isolated from a perianal swab of a patient with a bone marrow transplant // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2006. V. 56, No 3. P. 641–645. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63863-0>.
 28. Yumoto I., Nakamura A., Iwata H., Kojima K., Kusumoto K., Nodasaka Y., Matsuyama H. *Dietzia psychralcaliphila* sp. nov., a novel, facultatively psychrophilic alkaliphile that grows on hydrocarbons // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2002. V. 52, No 1. P. 85–90. <https://doi.org/10.1099/00207713-52-1-85>.
 29. Brito E.M., Guyoneaud R., Goñi-Urriza M., Ranchou-Peyruse A., Verbaere A., Crapez M.A.C., Wasserman J.C., Duran R. Characterization of hydrocarbonoclastic bacterial communities from mangrove sediments in Guanabara Bay, Brazil // Res. Microbiol. 2006. V. 157, No 8. P. 752–762. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2006.03.005>.
 30. Al-Awadhi H., Sulaiman R.H.D., Mahmoud H.M., Radwan S.S. Alkaliphilic and halophilic hydrocarbon-utilizing bacteria from Kuwaiti coasts of the Arabian Gulf // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2007. V. 77, No 1. P. 183–186. <https://doi.org/10.1007/s00253-007-1127-1>.

31. *Von der Weid I., Marques J.M., Cunha C.D., Lippi R.K., Dos Santos S.C.C., Rosado A.S., Lins U., Seldin L.* Identification and biodegradation potential of a novel strain of *Dietzia cinnamea* isolated from a petroleum-contaminated tropical soil // *Syst. Appl. Microbiol.* 2007. V. 30, No 4. P. 331–339. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2006.11.001>.
32. *Bødtker G., Hvidsten I.V., Barth T., Torsvik T.* Hydrocarbon degradation by *Dietzia* sp. A14101 isolated from an oil reservoir model column // *Antonie van Leeuwenhoek.* 2009. V. 96, No 4. P. 459–469. <https://doi.org/10.1007/s10482-009-9359-y>.
33. *Parales R.E., Resnick S.M.* Aromatic ring hydroxylating dioxygenases // *Ramos J.L., Levesque R.C. (Eds.) Pseudomonas.* Boston, MA: Springer, 2006. P. 287–340. https://doi.org/10.1007/0-387-28881-3_9.
34. *Fang H., Xu J.-B., Nie Y., Wu X.-L.* Pan-genomic analysis reveals that the evolution of *Dietzia* species depends on their living habitats // *Environ. Microbiol.* 2021. V. 23, No 2. P. 861–877. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15176>.
35. *Mayilraj S., Suresh K., Kroppenstedt R.M., Saini H.S.* *Dietzia kunjomensis* sp. nov., isolated from the Indian Himalayas // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2006. V. 56, No 7. P. 1667–1671. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.64212-0>.
36. *Li J., Chen C., Zhao G.-Z., Klenk H.-P., Pukall R., Zhang Y.-Q., Tang S.-K., Li W.-J.* Description of *Dietzia lutea* sp nov., isolated from a desert soil in Egypt // *Syst. Appl. Microbiol.* 2009. V. 32, No 2. P. 118–123. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2008.11.007>.
37. *Li J., Zhao G.-Z., Zhang Y.-Q., Klenk H.-P., Pukall R., Qin S., Xu L.-H., Li W.-J.* *Dietzia schimae* sp. nov. and *Dietzia cercidiphylli* sp. nov., from surface-sterilized plant tissues // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2008. V. 58, No 11. P. 2549–2554. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.2008/000919-0>.
38. *Yamamura H., Lisdiyanti P., Ridwan R., Ratnakomala S., Sarawati R., Lestari Y., Triana E., Kartina G., Widayastuti Y., Ando K.* *Dietzia timorensis* sp. nov., isolated from soil // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2010. V. 60, No 2. P. 451–454. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.012229-0>.

Поступила в редакцию 24.07.2023

Принята к публикации 23.08.2023

Пьянкова Анна Александровна, соискатель, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии

Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН

ул. Голева, д. 13, г. Пермь, 614081, Россия

E-mail: annpjankva@mail.ru

Плотникова Елена Генриховна, доктор биологических наук, заведующий лабораторией микробиологии техногенных экосистем

Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН

ул. Голева, д. 13, г. Пермь, 614081, Россия

E-mail: peg_el@mail.ru

ORIGINAL ARTICLE

doi: 10.26907/2542-064X.2024.1.5-22

Halotolerant Benzoic Acid-Degrading Bacteria of the Genus *Dietzia*

A.A. Pyankova*, E.G. Plotnikova**

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

E-mail: *annpjankva@mail.ru, **peg_el@mail.ru

Received July 24, 2023; Accepted August 23, 2023

Abstract

Six benzoic acid-degrading bacteria of the genus *Dietzia* were isolated from the saline ecotopes of the Verkhnekamskoe and Yakshinskoe salt deposits (Perm region, Komi Republic, Russia). Benzoic acid (BA) may accumulate in ecosystems through technogenic processes, as well as during the microbiological decomposition of complex organic compounds containing an aromatic ring. The strains studied here were found to be closely related to *D. psychrhalcaliphila*, *D. kunjamensis* subsp. *kunjamensis*, *D. cercidiphylli*, and *D. maris*. It was shown that they are halotolerant and able to thrive on BA as their sole carbon and energy source in the absence of salt or in the presence of 50–70 g/L NaCl. They also contain *benA* genes encoding the α -subunit of benzoate 1,2-dioxygenase, the key enzyme of BA degradation. The highest level of similarity (79.32–91.38%) was observed between the nucleotide sequences of the *benA* genes of the strains considered and the homologous sequences of *Actinomyces* representatives from genera such as *Dietzia*, *Mycolicibacterium*, *Geodermatophilus*, *Pseudonocardia*, *Corynebacterium*, and *Raineyella*. The described active BA degraders belonging to the genus *Dietzia* have the potential to aid in the development of bioremediation techniques for environmental objects contaminated with mono(poly)aromatic pollutants and subject to salting.

Keywords: potassium-magnesium salt deposit, halotolerant bacteria, *Dietzia*, benzoic acid, 16S rRNA genes, *benA*

Acknowledgements. This study was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation as part of state assignment no. 124021900006-5.

Conflicts of Interest. The authors declare no conflicts of interest.

Figure Captions

Fig. 1. Neighbor-joining tree showing the phylogenetic positions of the studied isolates in the genus *Dietzia* based on a comparative analysis of the 16S rRNA gene sequences. Evolutionary distances calculated using the Jukes–Cantor method. Scale bar: one nucleotide substitution per 100 nucleotides. Numbers indicate the statistical support for the branch nodes ascertained using the bootstrap analysis of 1000 replicates (bootstrap values are only shown for nodes that had > 50% support). GenBank numbers are given in parentheses. The 16S rRNA sequence of the *Micrococcus luteus* type strain was used as an outer group.

Fig. 2. Electropherogram of the BOX-PCR amplification products of *Dietzia* strains tested: M – DNA size marker, 100+ bp DNA Ladder; strains: 1 – YKS72R1, 2 – BFL18, 3 – PMK9(8), 4 – YM18, 5 – BNL4, 6 – NDT10, 7 – YM9, 8 – CXP24, 9 – CXP37, 10 – *Rhodococcus wratislaviensis* KT112-7, 11 – negative control.

Fig. 3. *Dietzia* sp. NDT10 growth on the RMM with BA at different NaCl concentrations (g/L): 1 – without NaCl, 2 – 30 g/L, 3 – 50 g/L, 4 – 70 g/L, 5 – 100 g/L.

Fig. 4. Electropherogram of the BOX-PCR amplification products of the *benA* gene: M – DNA size marker, 100+ bp DNA Ladder; strains: 1 – YKS72R1, 2 – BFL18, 3 – NDT10, 4 – PMK9(8), 5 – YM18, 6 – BNL4, 7 – YM9, 8 – CXP24, 9 – CXP37, 10 – *Rhodococcus wratislaviensis* KT112-7 (positive control), 11 – negative control.

Fig. 5. The *benA* genes of the studied *Dietzia* strains on the phylogenetic tree inferred from the comparative analysis of the translated amino acid sequences of the *benA* genes using the neighbor-joining method. Evolutionary distances calculated using the p-distance method. Numbers indicate the statistical support for the branch nodes ascertained using the bootstrap analysis of 1000 replicates (bootstrap values are only shown for nodes that had > 50% support). Scale bar: two amino acid substitutions per 100 amino acids. GenBank and IMG numbers are given in parentheses. IMG numbers are marked with asterisks.

References

- Gharibzahedi S.M.T., Razavi S.H., Mousavi S.M. Characterization of bacteria of the genus *Dietzia*: An updated review. *Ann. Microbiol.*, 2014, vol. 64, no. 1, pp. 1–11. <https://doi.org/10.1007/s13213-013-0603-3>.
- Olowo-Okere A., Ibrahim Y.K.E., Lo C.I., Olayinka B.O., Yimagou E.K., Yacouba A., Mohammed Y., Nabti L.Z., Ragueh A.A., Lupande D., Raoult D., Rolain J.-M., Diene S.M. Correction to: *Bhargavaea massiliensis* sp. nov. and *Dietzia massiliensis* sp. nov., novel bacteria species isolated from human urine samples in Nigeria. *Curr. Microbiol.*, 2022, vol. 79, no. 5, art. 157. <https://doi.org/10.1007/s00284-022-02838-0>.
- List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature. URL: <https://lpsn.dsmz.de>.
- Gurav R., Lyu H., Ma J., Tang J., Liu Q., Zhang H. Degradation of *n*-alkanes and PAHs from the heavy crude oil using salt-tolerant bacterial consortia and analysis of their catabolic genes. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, 2017, vol. 24, no. 12, pp. 11392–11403. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-8446-2>.
- Venil C.K., Malathi M., Devi P.R. Characterization of *Dietzia maris* AURCCBT01 from oil-contaminated soil for biodegradation of crude oil. *3 Biotech*, 2021, vol. 11, no. 6, art. 291. <https://doi.org/10.1007/s13205-021-02807-7>.
- Wojtowicz K., Steliga T., Kapusta P., Brzeszcz J., Skalski T. Evaluation of the effectiveness of the biopreparation in combination with the polymer γ -PGA for the biodegradation of petroleum contaminants in soil. *Materials*, 2022, vol. 15, no. 2, art. 400. <https://doi.org/10.3390/ma15020400>.
- Moreno M.D.L., Sanchez-Porro C., Piubeli F., Frias L., Garcia M.T., Mellado E. Cloning, characterization and analysis of *cat* and *ben* genes from the phenol degrading halophilic bacterium *Halomonas organivorans*. *PLoS One*, 2011, vol. 6, no. 6, art. e21049. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021049>.
- Li M., Yi P., Liu Q., Pan Y., Qian G. Biodegradation of benzoate by protoplast fusing via intergeneric protoplast fusion between *Pseudomonas putida* and *Bacillus subtilis*. *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, 2013, vol. 85, pp. 577–582. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.04.008>.
- Olmo A.D., Calzada J., Nuñez M. Benzoic acid and its derivatives as naturally occurring compounds in foods and as additives: Uses, exposure, and controversy. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2017, vol. 57, no. 14, pp. 3084–3103. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1087964>.
- Maeda M., Roberts M.S., Ohta Y., Fuji F., Travisano M., Kudo T. Isolation and characterization of a new aromatic compound-degrading alkalitrophic bacteria. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 1998, vol. 44, no. 1, pp. 101–106. <https://doi.org/10.2323/jgam.44.101>.
- Pyankova A.A., Plotnikova E.G., Shanina S.N. Bacterial community of the brines extracted during the underground dissolution of potassium-magnesium salts of the Yakshinskoe deposit (Komi Republic, Russia). *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya: Estestvennye Nauki*, 2022, vol. 164, no. 3, pp. 457–474. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2022.3.457-474>. (In Russian)
- Aleev V.S., Nechaeva Yu.I., Pyankova A.A., Plotnikova E.G. Hydrocarbon-oxidizing bacteria from the sludge storage in Berezniki's industrial zone (Perm region). *Aktual'nye aspekty sovremennoi mikrobiologii: sbornik tezisov XIII molodezhnoi shkoly-konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem* [Emerging Trends in Modern Microbiology: Proc. XIII Youth Sch.-Conf. with Int. Participation]. Moscow, 2022, pp. 14–17. (In Russian)

13. Bachurin B.A., Odintsova T.A. Mining wastes as sources of organic pollution. *Gorn. Inf.-Anal. Byull.*, 2009, no. 7, pp. 374–380. (In Russian)
14. Shanina S.N., Galamay A.R., Ignatovich O.O., Burdelnaya N.S., Valyaeva O.V. Organic matter of the salt sequence in the southern part of the Yakshinskoe potassium-magnesium salt deposit. *Geochem. Int.*, 2018, vol. 56, no. 7, pp. 719–734. <https://doi.org/10.1134/S0016702918070108>.
15. Pfennig N., Biebl H. *Desulfuromonas acetoxidans* gen. nov. and sp. nov., a new anaerobic, sulfur-reducing, acetate-oxidizing bacterium. *Arch. Microbiol.*, 1976, vol. 110, no. 1, pp. 3–12. <https://doi.org/10.1007/BF00416962>.
16. Raymond R.L. Microbial oxidation of n-paraffinic hydrocarbons. *Dev. Ind. Microbiol.*, 1961, vol. 2, no. 1, pp. 23–32. <https://doi.org/10.1038/sj.jim.2900633>.
17. Netrusov A.I. *Praktikum po mikrobiologii* [A Practical Course on Microbiology]. Moscow, Akademiya, 2005. 608 p. (In Russian)
18. Versalovic J., Schneider M., de Bruijn F.J., Lupski J. Genomic fingerprinting of bacteria using repetitive sequence-based polymerase chain reaction. *Methods Mol. Cell. Biol.*, 1994, vol. 5, no. 1, pp. 25–40.
19. Lane D.J. 16S/23S rRNA sequencing. In: Stackebrandt E., Goodfellow M. (Eds.) *Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics*. New York, John Wiley and Sons, 1991, pp. 115–175.
20. Molecular Evolutionary Genetics Analysis. URL: <http://www.megasoftware.net>.
21. EzBioCloud Database. URL: <http://www.ezbiocloud.net>.
22. The National Center for Biotechnology Information. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>.
23. Integrated Microbial Genomes and Microbiomes. URL: <https://img.jgi.doe.gov>.
24. Baggi G., Bernasconi S., Zangrossi M., Cavalca L., Vincenza A. Co-metabolism of di- and trichlorobenzoates in a 2-chlorobenzoate-degrading bacterial culture: Effect of the position and number of halo-substituents. *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, 2008, vol. 62, no. 1, pp. 57–64. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2007.12.002>.
25. Egorova D.O., Korsakova E.S., Demakov V.A., Plotnikova E.G. Degradation of aromatic hydrocarbons by the *Rhodococcus wratislaviensis* KT112-7 isolated from waste products of a salt-mining plant. *Appl. Biochem. Microbiol.*, 2013, vol. 49, no. 3, pp. 244–255. <https://doi.org/10.1134/S0003683813030071>.
26. Kushner D.J. *Zhizn' mikrobov v ekstremal'nykh usloviyakh* [Microbial Life in Extreme Environments]. Moscow, Mir, 1981. 365 p. (In Russian)
27. Yassin A.F., Hupfer H., Schaal K.P. *Dietzia cinnamea* sp. nov., a novel species isolated from a perianal swab of a patient with a bone marrow transplant. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2006, vol. 56, no. 3, pp. 641–645. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63863-0>.
28. Yumoto I., Nakamura A., Iwata H., Kojima K., Kusumoto K., Nodasaka Y., Matsuyama H. *Dietzia psychralcaliphila* sp. nov., a novel, facultatively psychrophilic alkaliphile that grows on hydrocarbons. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2002, vol. 52, no. 1, pp. 85–90. <https://doi.org/10.1099/00207713-52-1-85>.
29. Brito E.M., Guyoneaud R., Goñi-Urriza M., Ranchou-Peyruse A., Andreoni V., Crapez M.A.C., Wasserman J.C., Duran R. Characterization of hydrocarbonoclastic bacterial communities from mangrove sediments in Guanabara Bay, Brazil. *Res. Microbiol.*, 2006, vol. 157, no. 8, pp. 752–762. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2006.03.005>.
30. Al-Awadhi H., Sulaiman R.H.D., Mahmoud H.M., Radwan S.S. Alkaliphilic and halophilic hydrocarbon-utilizing bacteria from Kuwaiti coasts of the Arabian Gulf. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2007, vol. 77, no. 1, pp. 183–186. <https://doi.org/10.1007/s00253-007-1127-1>.
31. Von der Weid I., Marques J.M., Cunha C.D., Lippi R.K., Dos Santos S.C.C., Rosado A.S., Lins U., Seldin L. Identification and biodegradation potential of a novel strain of *Dietzia cinnamea* isolated from a petroleum-contaminated tropical soil. *Syst. Appl. Microbiol.*, 2007, vol. 30, no. 4, pp. 331–339. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2006.11.001>.
32. Bødtker G., Hvidsten I.V., Barth T., Torsvik T. Hydrocarbon degradation by *Dietzia* sp. A14101 isolated from an oil reservoir model column. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2009, vol. 96, no. 4, pp. 459–469. <https://doi.org/10.1007/s10482-009-9359-y>.

33. Parales R.E., Resnick S.M. Aromatic ring hydroxylating dioxygenases. In: Ramos J.L., Levesque R.C. (Eds.) *Pseudomonas*. Boston, MA, Springer, 2006. pp. 287–340. https://doi.org/10.1007/0-387-28881-3_9.
34. Fang H., Xu J.-B., Nie Y., Wu X.-L. Pan-genomic analysis reveals that the evolution of *Dietzia* species depends on their living habitats. *Environ. Microbiol.*, 2021, vol. 23, no. 2, pp. 861–877. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15176>.
35. Mayilraj S., Suresh K., Kroppenstedt R.M., Saini H.S. *Dietzia kunjamensis* sp. nov., isolated from the Indian Himalayas. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2006, vol. 56, no. 7, pp. 1667–1671. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.64212-0>.
36. Li J., Chen C., Zhao G.-Z., Klenk H.-P., Pukall R., Zhang Y.-Q., Tang S.-K., Li W.-J. Description of *Dietzia lutea* sp. nov., isolated from a desert soil in Egypt. *Syst. Appl. Microbiol.*, 2009, vol. 32, no. 2, pp. 118–123. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2008.11.007>.
37. Li J., Zhao G.-Z., Zhang Y.-Q., Klenk H.-P., Pukall R., Qin S., Xu L.-H., Li W.-J. *Dietzia schimae* sp. nov. and *Dietzia cercidiphylli* sp. nov., from surface-sterilized plant tissues. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2008, vol. 58, no. 11, pp. 2549–2554. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.2008/000919-0>.
38. Yamamura H., Lisdiyanti P., Ridwan R., Ratnakomala S., Sarawati R., Lestari Y., Triana E., Kartina G., Widyastuti Y., Ando K. *Dietzia timorensis* sp. nov., isolated from soil. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2010, vol. 60, no. 2, pp. 451–454. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.012229-0>.

Для цитирования: Пьянкова А.А., Плотникова Е.Г. Галотолерантные бактерии-деструкторы бензойной кислоты рода *Dietzia* // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2024. Т. 166, кн. 1. С. 5–22. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.1.5-22>.

For citation: Pyankova A.A., Plotnikova E.G. Halotolerant benzoic acid-degrading bacteria of the genus *Dietzia*. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennyye Nauki*, 2024, vol. 166, no. 1, pp. 5–22. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.1.5-22>. (In Russian)

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

УДК 632.4.01/.08+632.952+632.95.025.8

doi: 10.26907/2542-064X.2024.1.23-37

ХАРАКТЕРИСТИКА ПРИСПОСОБЛЕННОСТИ УСТОЙЧИВЫХ И ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ К ФУНГИЦИДАМ ИЗОЛЯТОВ *Venturia inaequalis* IN VITRO

А.И. Насонов¹, Г.В. Якуба¹, М.В. Бардак², И.Л. Астапчук¹,
Н.А. Марченко¹

¹Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия, г. Краснодар, 350901, Россия

²Кубанский государственный университет, г. Краснодар, 350040, Россия

Аннотация

Снижение эффективности системных фунгицидов против парши яблони связано с возникновением устойчивости *Venturia inaequalis* к применяемым токсикантам, что приводит к серьезным потерям в производстве. Для результативного управления устойчивостью необходимо всестороннее изучение приспособительного потенциала различных биотипов патогена, в том числе устойчивых к фунгицидам. Проведена оценка роста мицелия *in vitro* у изолятов с исходной чувствительностью и устойчивостью к одному или нескольким фунгицидам при четырех температурах (6, 18, 27 и 30 °С) и трех вариантах концентрации агара в питательной среде (2, 4 и 6%, масс./об.). Установлено, что за исключением роста мицелия при 27 °С, показатели прогнозируемой в лабораторных условиях приспособленности для изолятов *V. inaequalis* с множественной устойчивостью к фунгицидам и биотипов с исходной чувствительностью отличаются статистически незначимо.

Ключевые слова: *Venturia inaequalis*, триазолы, анилопиримидины, SDHI, множественная резистентность, «плата» за приспособленность, исходные изоляты, мицелиальный рост, тепловой стресс, концентрация агара, питательная среда.

1. Введение

Парша яблони, вызываемая грибным облигатным патогеном *Venturia inaequalis* (Cook) G. Winter, – экономически значимое заболевание яблони домашней (*Malus x domestica* Borkh.) во всех зонах возделывания культуры в Российской Федерации. Поскольку немногие коммерчески востребованные сорта яблони обладают устойчивостью, наиболее эффективной тактикой борьбы с заболеванием является применение фунгицидов. На современном этапе развития защиты растений применяются препараты различного генеза, в том числе и микробиологические, сортимент которых увеличивается [1], а уровень применения химических системных препаратов достаточно высок. Против парши яблони широко используются действующие вещества из химических классов: триазолы, стробилурины, ингибиторы сукцинатдегидрогеназы или карбоксамиды и анилопиримидины. Однако высокая изменчивость и приспособительный потенциал

патогена могут приводить к развитию у него устойчивости к фунгицидам. Впервые устойчивость к системным фунгицидам у *V. inaequalis* была зафиксирована 60 лет назад для додина, а спустя некоторое время и для бензимидазолов [2]. В настоящее время устойчивость или значительное снижение чувствительности у патогена зарегистрированы для триазолов и стробилуринов во многих странах мира, в том числе и в России [3, 4]. Недавно сообщалось о факте качественной устойчивости краснодарской популяции *V. inaequalis* к карбендазиму (химический класс: бензимидазолы) и снижению чувствительности к дифеноконазолу (триазолы) [5–7], в то время как чувствительность к анилинопиримидинам остается на высоком уровне [8].

Развитие устойчивости к фунгицидам в полевых условиях зависит от ряда факторов, включая наличие давления отбора, восприимчивого хозяина, нормы применения фунгицида, интервалов между обработками, стойкости фунгицида и способа его применения. Однако одним из наиболее важных факторов, который следует учитывать при развитии устойчивости к фунгицидам, является паразитарная приспособленность устойчивых изолятов в присутствии и в отсутствие давления отбора. Приспособленность может быть определена как относительная способность генотипа или популяции сохраняться с течением времени и вносить вклад в будущий генофонд и поддается количественной оценке с использованием различных параметров, включая эффективность заражения и количество вызванных заболеваний, или агрессивность. «Плата» за приспособленность также может быть измерена с точки зрения как прогнозируемой приспособленности (рост мицелия, прорастание и производство спор *in vitro*), так и фактической приспособленности (эксперименты *in vivo* и эксперименты по конкурентному исключению) [9]. Мутации, связанные с устойчивостью к фунгицидам, могут иметь отрицательный плеiotропный эффект или «плату» за приспособленность, которые проявляются в отсутствие фунгицидов [10]. Многие исследования, направленные на характеристику снижения приспособленности, связанной с развитием устойчивости к фунгицидам, имеют противоречивые результаты, что затрудняет окончательные выводы о резистентности к фунгицидам [10]. В некоторых работах [10, 11] выявлена низкая приспособленность устойчивых изолятов как в лабораторных, так и в полевых экспериментах. Однако большинство исследований показало, что «плата» за приспособленность незначительна или полностью отсутствует в популяциях, устойчивых к фунгицидам [9, 12–16].

2. Материалы и методы

2.1. Отбор изолятов. В ходе исследований оценено 40 моноспоровых изолятов *Venturia inaequalis*. Изоляты отличались устойчивостью или сниженной чувствительностью к различным фунгицидам и были собраны в промышленных садовых насаждениях яблони сортов Ренет Симиренко, Жеромин и Мутсу, а также в естественных произрастаниях *Malus orientalis* в Выселковском, Красноармейском и Северском районах Краснодарского края (табл. 1) с 2019 по 2022 г. в рамках предыдущих исследований [5–7]. Получение чистых культур мы осуществляли согласно описанной ранее методике [17]. Изоляты, ранее оцененные по чувствительности к трем химическим группам фунгицидов

(бензимидазолы, триазолы и анилинопиримидины) *in vitro*, группировали для анализа на основе их чувствительности и устойчивости к действующим веществам. Первые три группы характеризовались одновременной устойчивостью к одному, двум или трем фунгицидам соответственно, а группа 4 содержала изоляты с исходной чувствительностью ко всем фунгицидам (табл. 1). Все изоляты первых трех групп были устойчивы к фунгицидам из класса бензимидазолов. Изоляты из группы 2, кроме этого, имели сниженную чувствительность или устойчивость к триазолам или к анилинопиримидинам. В группе 3 представлены изоляты, показавшие сниженную чувствительность или устойчивость ко всем трем классам фунгицидов.

Табл. 1

Характеристика различных групп изолятов *Venturia inaequalis*

Группа	Множественная устойчивость	Растение-хозяин	Место отбора
1	1	сорта <i>Malus x domestica</i> Borkh.	Красноармейский и Выселковский районы
2	2		
3	3		
4	0	<i>Malus orientalis</i> Uglitzk.	Северский район

2.2. Оценка роста мицелия. Агаровые блоки, содержащие мицелий моноспоровых культур, с помощью пробковых буров переносили на среду картофельно-глюкозного агара (КГА) в чашки Петри и инкубировали при температуре 18 °С в течение 20 сут. С полученных культур соскабливали стерильным скальпелем воздушный мицелий и переносили в пробирки типа Эппендорф емкостью 1.5 мл, содержащие 1 мл стерильной воды. Полученную суспензию встряхивали и переносили в чашки Петри со свежим КГА и равномерно распределяли L-образным шпателем (Дригальского) по поверхности питательной среды. Посев инкубировали в течение 15 сут при температуре 18 °С. Полученные газонные культуры изолятов использовали для посева в экспериментах. Экспериментальные чашки Петри засеивали агаровыми блоками диаметром 5 мм с использованием пробковых буров и инкубировали в течение 30 сут. После этого диаметр каждой культуры измеряли линейкой в двух взаимоперпендикулярных направлениях и получали среднее значение. Из полученных значений размеров изолятов вычитали 5 мм, соответствующих размеру посевного блока. Каждый изолят высевался в четырехкратной повторности.

Для оценки роста мицелия при различных температурах экспериментальные посеивы инкубировали в термостате при 6, 18, 27 и 30 °С. Для оценки влияния концентрации агара в агаровом геле (2, 4 и 6%, масс./об.) на рост мицелия при приготовлении экспериментальной среды КГА вносили различное количество (20, 40 и 60 г/л) агара сухого микробиологического (С.Е. Roerger GmbH, Германия).

2.3. Статистическая обработка данных. Эксперименты проведены для каждого изолята в четырехкратной повторности. Данные представлены как средние значения величин для каждой группы с их стандартными ошибками. В связи с тем, что не для всех групп соблюдалось нормальное распределение значений

размера изолятов, для статистической проверки данных использовали непараметрический метод Краскела – Уоллиса. Для выявления различий между отдельными группами проводили апостериорный тест Данна. Для снижения вероятности ошибки первого рода при множественных сравнениях использовали поправку Бонферрони. Статистическую обработку данных проводили с применением онлайн-калькулятора Statistics Kingdom [18]. Различия между средними значениями групп считали значимыми при $p < 0.05$.

3. Результаты

3.1. Оценка роста мицелия при различных температурах. Рост изолятов при различных температурах существенно различался (табл. 2).

Табл. 2

Вариации средних значений зоны роста мицелия изолятов *Venturia inaequalis* при различных температурах в группах, различающихся чувствительностью и устойчивостью к одному или нескольким фунгицидам одновременно, мм

Группа	Среднее значение диаметра изолята ± стандартная ошибка		
	$t = 6\text{ }^{\circ}\text{C}$	$t = 18\text{ }^{\circ}\text{C}$	$t = 27\text{ }^{\circ}\text{C}$
1	5.5 ± 0.7^a	12.8 ± 2.1^{ab}	2.3 ± 1.4^{ab}
2	5.1 ± 0.4^a	12.8 ± 0.7^a	1.9 ± 1.0^a
3	5.8 ± 0.4^a	13.5 ± 1.1^a	1.8 ± 0.5^a
4 (исходная)	3.2 ± 0.3^b	9.8 ± 1.0^b	5.4 ± 1.2^b

Примечание: буквы показывают наличие достоверных различий между средними значениями диаметра изолятов по данным апостериорного теста множественных сравнений Данна с учетом поправки Бонферрони при $p < 0.05$.

При температуре 30 °C рост мицелия полностью ингибировался у всех изолятов (данные не приведены). Наибольший рост для всех групп отмечался при температуре 18 °C, которая оказалась оптимальной для грибной культуры (рис. 1). Стрессовые температуры, равные 6 и 27 °C, приводили к значительному торможению скорости роста мицелия во всех группах в среднем на 60 и 77% соответственно относительно скорости роста при 18 °C. Однако для каждой из групп степень этого снижения была различной. Так, в группе 4 при низкой положительной температуре размер изолятов был меньше на 68% относительно размера изолятов при оптимальной температуре, а при 27 °C – всего на 45%.

Для всех рассмотренных температур зафиксировано существенное различие в скорости роста между группой с исходной чувствительностью и группами с устойчивостью к двум и трем фунгицидам одновременно и только при 6 °C – с группой 1. Эти факты указывают на наличие «платы» за приспособленность у некоторых изолятов. Однако при низкой положительной и оптимальной температуре исходные изоляты отличались пониженной приспособленностью по сравнению с изолятами с устойчивостью. При 27 °C наблюдается обратная картина, что может говорить о наличии «платы» за приспособленность у изолятов с устойчивостью к нескольким фунгицидам одновременно в условиях возможного теплового стресса.

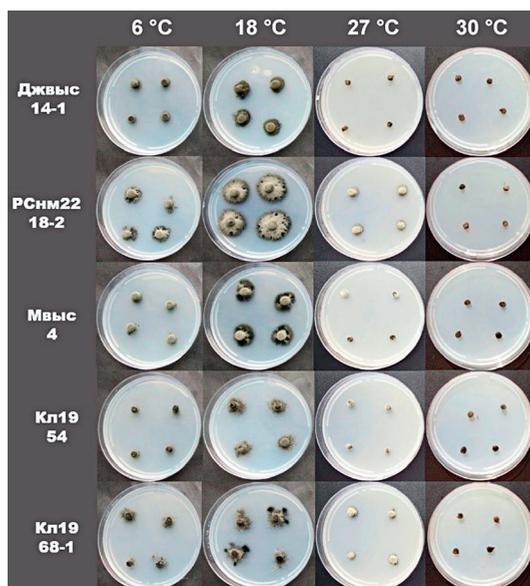


Рис. 1. Рост изолятов *Venturia inaequalis*, характеризующихся разной чувствительностью или устойчивостью к одному или нескольким фунгицидам одновременно, при различных температурах. Изоляты Джвыс-14-1, РСнм22-18-2 и Мвыс-4 устойчивы к 1, 2 и 3 фунгицидам соответственно, изоляты Кл19-54 и Кл19-68-1 обладают исходной чувствительностью к фунгицидам

3.2. Оценка роста мицелия при различной концентрации агара в питательной среде. Концентрация агара, которая обуславливает плотность агаровой пластины, влияет на скорость роста мицелия в разных группах (рис. 2).

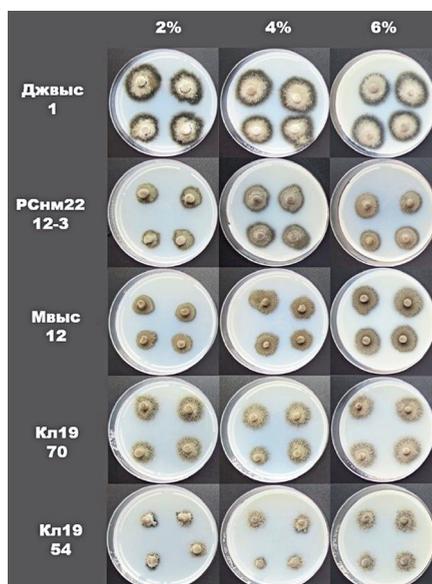


Рис. 2. Рост изолятов *Venturia inaequalis*, характеризующихся различной чувствительностью или устойчивостью к одному или нескольким фунгицидам одновременно, в зависимости от концентрации агара в питательной среде. Изоляты Джвыс-1, РСнм22-12-3 и Мвыс-12 устойчивы к 1, 2 и 3 фунгицидам соответственно, изоляты Кл19-70 и Кл19-54 обладают исходной чувствительностью к фунгицидам

Размер изолятов во всех группах при концентрации агара 4% был больше, чем при 2%. При этом для изолятов с устойчивостью к фунгицидам размер больше в среднем на 11%, а для чувствительных – всего на 2% относительно варианта питательной среды с менее плотным гелем. Однако достоверное различие наблюдается только в группе 2 (табл. 3).

Табл. 3

Средние значения размера изолятов *Venturia inaequalis* в группах, различающихся множественной устойчивостью к фунгицидам, в зависимости от концентрации агара в питательной среде, мм

Группа по устойчивости к фунгицидам	Концентрация агара в питательной среде, %		
	2	4	6
1	18.6 ± 1.9 ^a	20.8 ± 1.8 ^a	18.7 ± 1.6 ^a
2	17.5 ± 1.0 ^{a*}	20.1 ± 0.8 ^{b*}	18.4 ± 1.5 ^a
3	18.1 ± 1.3 ^a	20.2 ± 1.0 ^b	18.7 ± 1.6 ^a
4 (исходная)	15.6 ± 1.3 ^a	16.4 ± 1.1 ^a	17.8 ± 1.4 ^a

Примечание: буквы показывают наличие достоверных различий между средними значениями размера изолятов в столбцах, а звездочка – между столбцами, по данным апостериорного теста множественных сравнений Данна с учетом поправки Бонферрони при $p < 0.05$.

Размер изолятов при концентрации агара 6% незначительно выше или находится на одном уровне у всех групп с устойчивостью. Для группы с исходной чувствительностью увеличение среднего размера изолятов для самой плотной среды выше на 12% относительно предыдущих вариантов сред, но эта разница недостоверна.

4. Обсуждение результатов

Это первое исследование по оценке феномена «платы» за приспособленность для изолятов *Venturia inaequalis* с множественной устойчивостью к фунгицидам трех различных химических классов. Результаты, представленные в недавних научных публикациях о широком распространении устойчивости к фунгицидам в популяциях возбудителя парши яблони в Краснодарском крае [6, 7], требуют разработки и внедрения стратегии управления, которая может функционально сдерживать дальнейшее развитие устойчивости. Чтобы успешно реализовать эту стратегию и определить ее эффективность для сдерживания селекции устойчивых штаммов, необходимы знания об адаптациях паразитов, поскольку резистентность может сопровождаться «платой» за приспособленность, которая влияет на риск нарастания резистентности в отсутствие давления отбора [19, 20]. Таким образом, характеристика устойчивых изолятов с точки зрения приспособленности может позволить предсказать поведение популяции патогена [21]. В текущем исследовании на основе измерения параметров *in vitro* паразитарная приспособленность оценена с точки зрения так называемой прогнозируемой приспособленности, которая, возможно, будет проявляться в естественных условиях обитания патогена [22].

Полученные данные показали, что в зависимости от температуры роста изоляты, чувствительные и устойчивые к двум и более фунгицидам, существенно различались по своим размерам, но направление этих различий было неодинаковым. При оптимальной и низкой положительной температуре изоляты с исходной чувствительностью имели меньшие размеры, чем устойчивые, т. е. при этих температурах изоляты с множественной устойчивостью показали большую приспособленность, чем чувствительные. При температуре 27 °С зависимость была обратной, чувствительные изоляты имели в среднем более крупные размеры. Этот факт может указывать на наличие прогнозируемой «платы» за приспособленность у биотипов *V. inaequalis* с множественной устойчивостью к фунгицидам в условиях теплового стресса.

Ранее в исследованиях отечественных ученых оптимальная для роста возбудителя парши яблони температура в искусственных условиях была определена в диапазоне от 15 до 22 °С [23–25]. В исследованиях Р.Н. Федоровой сообщалось, что при температуре 12 °С рост изолятов *V. inaequalis* был ограничен, а при 32 °С некоторые географические расы патогена (дальневосточная и сахалинская) не росли вообще [24]. Для рассматриваемых нами изолятов рост отсутствовал уже при 30 °С.

Изучению феномена «платы» за приспособленность на возбудителе парши яблони посвящены лишь единичные работы. В работе [13] показано отсутствие значимых различий в росте чувствительных и резистентных изолятов на КГА при 19 °С. Группа французских ученых, изучавшая *in vitro* ряд приспособительных характеристик, определяющих способность патогена к распространению, показала, что форма *V. inaequalis*, представлявшая собой популяцию из интенсивных садов, имела достоверно большие размеры спор и выше уровень споруляции, чем форма возбудителя парши из естественных произрастаний дикой яблони *Malus sieversii* (Ledeb.) M. Roem. на северных склонах Тянь-Шаня [26]. Это свидетельствует о том, что садовая популяция патогена имеет более высокий приспособительный потенциал, чем дикая. В наших исследованиях в качестве популяции с исходной чувствительностью также были использованы изоляты *V. inaequalis*, выделенные из симптоматизированных листьев дикой яблони *Malus orientalis*, собранных в предгорьях Западного Предкавказья. Полученные данные показывают, что дикая популяция характеризуется достоверно более низкой приспособленностью при росте на среде КГА при оптимальной и низкоположительной субоптимальной температуре, чем садовая популяция.

Более обширные исследования «платы» за приспособленность были проведены на других фитопатогенных грибах. Для устойчивых к тебуконазолу, флудиксонилу и ипродиону изолятов *Penicillium expansum*, возбудителя гнили плодов при хранении, выявлено достоверное снижение роста мицелия по сравнению с исходными изолятами. При этом изоляты со сниженной чувствительностью к ципродинилу не имели нарушений в адаптации [10]. Устойчивые к дикарбоксимидам изоляты *Alternaria brassicicola* не имели существенных отличий от дикого типа при росте *in vitro* в оптимальных условиях, в то время как температурный и осмотический стрессы значительно снижали приспособительный потенциал устойчивых мутантов [11]. Эти результаты согласуются с выявленным нами фактом о сниженном росте изолятов *V. inaequalis* с множественной

устойчивостью при тепловом стрессе (рост при 27 °С). В работе [14] показано наличие ограничений в приспособленности устойчивых к флюксапироксаду изолятов *Botrytis cinerea*, возбудителя серой гнили, при росте на агаровой среде с добавлением глицерина, но не на среде КДА. При этом у возбудителя гнили картофеля *Alternaria solani* между изолятами дикого типа и резистентными к фунгицидам, ингибирующим сукцинатдегидрогеназу и внешние хиноны, *in vitro* не наблюдалось существенных различий в зонах роста мицелия ($p = 0.51$) [9]. В некоторых исследованиях *in vivo* и *in vitro* выявлено не столько отсутствие различий в приспособленности между чувствительной и устойчивой популяциями, сколько большая приспособленность последней. Так, устойчивые изоляты *Pyricularia oryzae* имеют больший рост мицелия и продукцию спор в лабораторных условиях и большую патогенность в экспериментах по заражению растений в сравнении с чувствительными [12]. Эти наблюдения согласуются с полученными нами результатами о преобладающей приспособленности резистентных культур при росте при температуре 6 и 18 °С.

Впервые при анализе прогнозируемой приспособленности фитопатогенов использован эксперимент по оценке зоны роста субстратного мицелия в питательной среде с разной концентрацией агара. Установлено, что увеличение концентрации агара до 4% вызывает усиление роста мицелия *V. inaequalis*, а при увеличении концентрации до 6% рост колонии тормозится и соответствует росту колонии в среде с 2%-ным гелем. Однако эта зависимость наблюдается только для устойчивых изолятов. Для чувствительных изолятов происходит равномерное усиление роста при увеличении плотности агарового геля. Однозначно предсказать наличие «платы» за приспособленность у устойчивых изолятов не представляется возможным, так как отмеченный феномен имеет характер тенденции и не подтвержден на уровне значимости $p < 0.05$.

Ранее среды с различной концентрацией агара в питательной среде использовали для выявления значимости в патогенезе меланизированнойности индуцированных гиф у возбудителя дерматомикоза человека и животных *Wangiella dermatitidis*. Показано, что дикий меланизированный биотип лучше проникает в среду с более высокой концентрацией агара (2–8%), чем мутантный немеланизированный штамм. Авторы предположили важность биомеханических характеристик гиф, определяемых наличием меланина, для проникновения паразита в ткани хозяина [27].

Роль меланина на начальных этапах патогенеза *V. inaequalis* была показана в работе [28]. Позже установили более широкое влияние меланина на приспособительные характеристики патогена. Так, потеря функции продуцировать меланин у меланин-дефицитного мутанта *V. inaequalis* SW01 приводила к частичной утрате жесткости клеточной стенки, снижению агрессивности по отношению к растению-хозяину и повышенной уязвимости к некоторым ксенобиотикам. При этом лабораторный мутант был способен заражать растение-хозяина и выживать в естественных условиях [29].

В некоторых случаях признак роста мицелия *in vitro* оказался менее информативным, чем показатели приспособленности *in vivo* при оценке эффекта «платы» у резистентных штаммов фитопатогенов. Изоляты *Sclerotinia homoeocarpa*, вызывающей склеротиниоз газона (долларовая пятнистость), которые имели устойчивость к пропиконазолу, существенно не отличались по скорости роста

мицелия в лабораторных условиях, но в полевых условиях при исключении из системы защиты фунгицида отмечено нарастание доли чувствительных форм гриба [30]. С другой стороны, долговременный мониторинг чувствительности к стробилюринам *V. inaequalis* в экспериментальных садах с отсутствием обработки препаратами с действующими веществами из этого класса фунгицидов в течение одного сезона и шести лет показал стабильно высокий уровень устойчивых форм патогена [15, 16].

Как отмечают некоторые авторы, оценка феномена «платы» за приспособленность *in vivo* является более информативной и чувствительной, чем лабораторные эксперименты [31]. Анализ экспериментов, проведенных на бактериях, показывает, что индивидуальные различия в степени роста культур *in vitro* должны быть более 5% на генерацию, чтобы их можно было обнаружить, тогда как конкурентные анализы могут выявить различия в 1% или даже 0.1% в зависимости от методов обнаружения частот генотипов [32].

Полученные в нашем исследовании данные о приспособительных характеристиках изолятов *V. inaequalis*, устойчивых к фунгицидам из одного или нескольких химических классов, имеют важное значение для контроля парши яблони в саду. Показано, что изоляты *V. inaequalis*, устойчивые к бензимидазолам, триазиолам и анилинопиримидинам, имеют схожую или даже лучшую паразитарную приспособленность по большинству изученных *in vitro* параметров по сравнению с чувствительными изолятами. Это позволяет предположить, что устойчивые изоляты могут успешно конкурировать с чувствительными изолятами в полевых условиях.

Заключение

Впервые для возбудителя парши яблони в экспериментах *in vitro* была оценена приспособленность его изолятов, отличающихся чувствительностью или множественной устойчивостью к фунгицидам, к росту при различной температуре, включающей нижний и верхний пороги субоптимальных значений, а также при трех уровнях концентрации агара в питательной среде. Проведенные исследования показали, что за исключением роста мицелия при 27 °С по показателям прогнозируемой *in vitro* приспособленности изоляты *V. inaequalis* со множественной устойчивостью к фунгицидам значимо не отличались от биотипов с исходной чувствительностью или имели более высокие ее значения. Это позволяет предположить, что устойчивые изоляты могут успешно конкурировать с чувствительными в полевых условиях. Информация о «плате» за приспособленность может играть ключевую роль в определении стратегии дальнейшего использования химического препарата для контроля возбудителя парши яблони при создании антирезистентных программ защиты. Если резистентность не связана с «платой» за приспособленность, то соответствующий потерявший эффективность фунгицид должен быть исключен из программы защиты и, более того, использование его в качестве одного из компонентов в смесевых препаратах будет нецелесообразно вследствие развития устойчивости.

Дальнейшие исследования будут посвящены оценке конкуренции с использованием смешанных инокулятов изолятов в различных соотношениях. Эксперименты по инокуляции *in vivo* с использованием смесей чувствительных изолятов

и изолятов, обладающих устойчивостью к фунгицидам, и определение их доли после реизоляции из зараженных растений обеспечат дополнительную оценку конкурентоспособности за счет более точного моделирования полевых условий.

Благодарности. Исследование выполнено при финансовой поддержке Кубанского научного фонда в рамках научного проекта № МФИ-20.1/98.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Якуба Г.В. Оценка биологической эффективности биофунгицидов в защите от парши и биологизированный контроль основных микозов в агроценозах яблони // Научные труды СКЗНИИСиВ. 2016. Т. 9. С. 193–200.
2. Cox K.D. Fungicide resistance in *Venturia inaequalis*, the causal agent of apple scab, in the United States: Ch. 27 // Ishii H., Hollomon D. (Eds.) Fungicide Resistance in Plant Pathogens: Principles and a Guide to Practical Management. Tokyo: Springer, 2015. P. 433–447. https://doi.org/10.1007/978-4-431-55642-8_27.
3. Cox K.D., Russo N.L., Villani S.M., Parker D.M., Köller W. QoI qualitative resistance and CYP51A1 upstream anomalies in NY populations of the apple scab pathogen *Venturia inaequalis* // Phytopathology. 2008. V. 98, No S6. Suppl. S. P. S42. (Proc. 100th Annu. Meet. of the American Phytopathological Society, July 26–30, 2008. Minneapolis, MN: Am. Phytopathol. Soc., 2008).
4. Тютепов С.Л. Проблемы устойчивости фитопатогенов к новым фунгицидам // Вестник защиты растений. 2001. № 1. С. 38–53.
5. Nasonov A.I., Yakuba G.V., Marchenko N., Lobodina E.V., Astapchuk I.L. Evaluation of sensitivity of apple scab pathogen to difenoconazole using the discriminatory dose technique // Proc. Int. Sci. Pract. Conf. “Innovative Technologies in Agriculture” (ITIA 2022). 2022. V. 47. Art. 10002. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20224710002>.
6. Насонов А.И., Якуба Г.В., Астанчук И.Л. Чувствительность краснодарской популяции *Venturia inaequalis* к дифеноконазолу, ингибитору деметилирования стерина // Микология и фитопатология. 2021. Т. 55, № 4. С. 297–308. <https://doi.org/10.31857/S0026364821040103>.
7. Насонов А.И., Якуба Г.В., Лободина Е.В. Длительное сохранение резистентности к карбендазиму у *Venturia inaequalis* в Краснодарском крае (Россия) // Микология и фитопатология. 2022. Т. 56, № 5. С. 374–378. <https://doi.org/10.31857/S0026364822050087>.
8. Насонов А.И., Якуба Г.В., Астанчук И.Л., Степанов И.В. Чувствительность к ципродинулу популяций возбудителя парши яблони из краснодарских садов *in vitro* // Плодоводство и виноградарство Юга России. 2023. № 79 (1). С. 186–202. <https://doi.org/10.30679/2219-5335-2023-1-79-186-202>.
9. Bauske M.J., Gudmestad N.C. Parasitic fitness of fungicide-resistant and -sensitive isolates of *Alternaria solani* // Plant Dis. 2018. V. 102, No 3. P. 666–673. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-17-1268-RE>.
10. Karaoglanidis G.S., Markoglou A.N., Bardas G.A., Doukas E.G., Konstantinou S., Kalampokis J.F. Sensitivity of *Penicillium expansum* field isolates to tebuconazole, iprodione, fludioxonil and cyprodinil and characterization of fitness parameters and patulin production // Int. J. Food Microbiol. 2011. V. 145, No 1. P. 195–204. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.12.017>.
11. Iacomi-Vasilescu B., Bataille-Simoneau N., Champion C., Dongo A., Laurent E., Serandat I., Hamon B., Simoneau P. Effect of null mutations in the AbNIK1 gene

- on saprophytic and parasitic fitness of *Alternaria brassicicola* isolates highly resistant to dicarboximide fungicides // Plant Pathol. 2008. V. 57, No 5. P. 937–947. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2008.01864.x>.
12. Dorigan A.F., Moreira S.I., Ceresini P.C., Pozza E.A., Belan L.L., da Silveira P.R., Alves E. Higher fitness and competitive advantage of *Pyricularia oryzae* Triticum lineage resistant to QoI fungicides // Pest Manage. Sci. 2022. V. 78, No 12. P. 5251–5258. <https://doi.org/10.1002/ps.7144>.
 13. Chapman K.S., Sundin G.W., Beckerman J.L. Identification of resistance to multiple fungicides in field populations of *Venturia inaequalis* // Plant Dis. 2011. V. 95, No 8. P. 921–926. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-10-0899>.
 14. Liu K., Wen Z., Ma Z., Shao W. Biological and molecular characterizations of fluxapyroxad-resistant isolates of *Botrytis cinerea* // Phytopathol. Res. 2022. V. 4, No 1. Art. 2. <https://doi.org/10.1186/s42483-022-00107-3>.
 15. Lesniak K.E., Proffer T.J., Beckerman J.L., Sundin G.W. Occurrence of QoI resistance and detection of the G143A mutation in Michigan populations of *Venturia inaequalis* // Plant Dis. 2011. V. 95, No 8. P. 927–934. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-10-0898>.
 16. Fiaccadori R. Persistence of *Venturia inaequalis* populations resistant to strobilurins in the field and in the glasshouse // Am. J. Plant Sci. 2018. V. 9, No 4. P. 552–560. <https://doi.org/10.4236/ajps.2018.94042>.
 17. Насонов А.И. Новый способ получения культуры *Venturia inaequalis* из аскоспор // Микология и фитопатология. 2019. Т. 53, № 1. С. 46–48. <https://doi.org/10.1134/S0026364819010094>.
 18. Mann–Whitney U test calculator // Statistics Kingdom. 2017. URL: <http://www.statskingdom.com>.
 19. Mikaberidze A., McDonald B.A., Bonhoeffer S. Can high-risk fungicides be used in mixtures without selecting for fungicide resistance? // Phytopathology. 2014. V. 104, No 4. P. 324–331. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-07-13-0204-R>.
 20. Milgroom M.G., Levin S.A., Fry W.E. Population genetics theory and fungicide resistance // Leonard K.J., Fry N.E. (Eds.) Plant Disease Epidemiology. N. Y., NY: McGraw-Hill Co., 1989. V. 2: Genetics, resistance and management. P. 340–367.
 21. Avenot H.F., Michailides T.J. Progress in understanding molecular mechanisms and evolution of resistance to succinate dehydrogenase inhibiting (SDHI) fungicides in phytopathogenic fungi // Crop Prot. 2010. V. 29, No 7. P. 643–651. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.02.019>.
 22. Antonovics J., Alexander H.M. The concept of fitness in plant-fungal pathogen systems // Leonard K.J., Fry N.E. (Eds.) Plant Disease Epidemiology. N. Y., NY: McGraw-Hill Co., 1989. V. 2: Genetics, resistance and management. P. 185–214.
 23. Комардина В.С. Особенности культурально-морфологических признаков возбудителя парши яблони *Venturia inaequalis* (Соок.) Wint. (конидиальная стадия *Fusicladium dendriticum* (Wallr.) Fuck.), выделенных из садов различных типов // Защита растений: сборник научных трудов. Минск: Институт защиты растений НАН Беларуси, 2006. Вып. 30, ч. 2. С. 121–129.
 24. Федорова П.Н. Парша яблони. Л.: Колос, 1977. 64 с.
 25. Kavak H., Celik A. Comparison of some morphological and physiological characters of apple scab pathogen (*Venturia inaequalis*) in two different agricultural ecology of Turkey // Erwerbs-Obstbau. 2021. V. 63. P. 47–52. <https://doi.org/10.1007/s10341-020-00540-8>.
 26. De Gracia M., Cascales M., Expert P., Bellanger M.-N., Le Cam B., Lemaire C. How did host domestication modify life history traits of its pathogens? // PLoS ONE. 2015. V. 10, No 6. Art. e0122909. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122909>.

27. *Brush L., Money N.P.* Invasive hyphal growth in *Wangiella dermatitidis* is induced by stab inoculation and shows dependence upon melanin biosynthesis // *Fungal Genet. Biol.* 1999. V. 28, No 3. P. 190–200. <https://doi.org/10.1006/fgbi.1999.1176>.
28. *Hignett R.C., Roberts A.L., Larder J.H.* Melanoprotein and virulence determinants of *Venturia inaequalis* // *Physiol. Plant Pathol.* 1984. V. 24, No 3. P. 321–330. [https://doi.org/10.1016/0048-4059\(84\)90005-5](https://doi.org/10.1016/0048-4059(84)90005-5).
29. *Steiner U., Oerke E.-C.* A melanin-deficient isolate of *Venturia inaequalis* reveals various roles of melanin in pathogen life cycle and fitness // *J. Fungi.* 2022. V. 9, No 1. Art. 35. <https://doi.org/10.3390/jof9010035>.
30. *Hsiang T., Yang L., Barton W.* Relative virulence of isolates of *Sclerotinia homoeocarpa* with varying sensitivity to propiconazole // *Eur. J. Plant Pathol.* 1998. V. 104. P. 163–169. <https://doi.org/10.1023/A:1008614832692>.
31. *Насонов А.И., Якуба Г.В.* К вопросу об изучении феномена «платы» за приспособленность у фитопатогенных грибов // *Современная микология в России. Материалы пятого съезда микологов России: сборник научных трудов.* М.: Национальная академия микологии, 2022. Т. 9, вып. 4. С. 282–283.
32. *Andersson D.I., Hughes D.* Antibiotic resistance and its cost: Is it possible to reverse resistance? // *Nat. Rev. Microbiol.* 2010. V. 8. P. 260–271. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2319>.

Поступила в редакцию 19.07.2023

Принята к публикации 15.09.2023

Насонов Андрей Иванович, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией биотехнологического контроля фитопатогенов и фитофагов

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия»

ул. им. 40-летия Победы, д. 39, г. Краснодар, 350901, Россия

E-mail: nasoan@mail.ru

Якуба Галина Валентиновна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биотехнологического контроля фитопатогенов и фитофагов

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия»

ул. им. 40-летия Победы, д. 39, г. Краснодар, 350901, Россия

E-mail: galyayaku@gmail.com

Бардак Мария Владимировна, магистрант биологического факультета

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный университет»

ул. Ставропольская, д. 149, г. Краснодар, 350040, Россия

E-mail: maria.brd1405@mail.ru

Астапчук Ирина Леонидовна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории биотехнологического контроля фитопатогенов и фитофагов

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия»

ул. им. 40-летия Победы, д. 39, г. Краснодар, 350901, Россия

E-mail: irina_astapchuk@mail.ru

Марченко Никита Александрович, младший научный сотрудник лаборатории биотехнологического контроля фитопатогенов и фитофагов

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия»

ул. им. 40-летия Победы, д. 39, г. Краснодар, 350901, Россия

E-mail: marchekonikita@yandex.ru

ORIGINAL ARTICLE

doi: 10.26907/2542-064X.2024.1.23-37

***In Vitro* Study of Fitness Parameters
in Fungicide-Resistant and -Sensitive *Venturia inaequalis* Isolates**A.I. Nasonov^{a*}, G.V. Yakuba^{a**}, M.V. Bardak^{b***}, I.L. Astapchuk^{a****}, N.A. Marchenko^{a*****}^aNorth Caucasian Federal Scientific Center of Horticulture, Viticulture, Wine-Making,
Krasnodar, 350901 Russia^bKuban State University, Krasnodar, 350040 RussiaE-mail: *nasoan@mail.ru, **galyayaku@gmail.com, ***maria.brd1405@mail.ru,
****irina_astapchuk@mail.ru, *****marchekonikita@yandex.ru

Received July 19, 2023; Accepted September 15, 2023

Abstract

The developing resistance of *Venturia inaequalis* to toxicants commonly used in systemic fungicides against apple scab has reduced their effectiveness, causing substantial fruit loss in orchards. To improve the situation and manage the resistance, a thorough analysis of the fitness potential among different pathogen biotypes, particularly those resistant to fungicides, is needed. In this study, the mycelial growth of *V. inaequalis* isolates with baseline sensitivity and resistance to one or more fungicides was assessed *in vitro* at four temperatures (6, 18, 27, and 30°C) and three agar concentrations in the nutrient medium (2, 4, and 6% m/V). Except for the mycelial growth at 27°C, the indicators of fitness predicted *in vitro* did not differ significantly between the *V. inaequalis* isolates with multiple resistance to fungicides and the biotypes with baseline sensitivity.

Keywords: *Venturia inaequalis*, triazoles, anilopyrimidines, SDHI, multiple resistance, fitness cost, baseline isolates, mycelial growth, heat stress, agar concentration, nutrient medium

Acknowledgements. This study was supported by the Kuban Science Foundation (project no. MFI-20.1/98).

Conflicts of Interest. The authors declare no conflicts of interest.

Figure captions

Fig. 1. Growth of the *Venturia inaequalis* isolates with varying sensitivity or resistance to one or more fungicides simultaneously at different temperatures. The Jvys-14-1, RSnm22-18-2, and Mvys-4 isolates are resistant to one, two, and three fungicides, respectively; the K119-54 and K119-68-1 isolates have baseline sensitivity to fungicides.

Fig. 2. Growth of the *Venturia inaequalis* isolates with varying sensitivity or resistance to one or more fungicides simultaneously, depending on the concentration of agar in the nutrient medium. The Jvys-1, RSnm22-12-3, and Mvys-12 isolates are resistant to one, two, and three fungicides, respectively; the K119-70 and K119-54 isolates have baseline sensitivity to fungicides.

References

1. Yakuba G.V. Assessing the biological efficiency of biofungicides in scab combating and biological control of the main mycoses in apple agrocenoses. *Nauchn. Tr. SKZNIISiV*, 2016, vol. 9, pp. 193–200. (In Russian)
2. Cox K.D. Fungicide resistance in *Venturia inaequalis*, the causal agent of apple scab, in the United States. In: Ishii H., Hollomon D. (Eds.) *Fungicide Resistance in Plant Pathogens*:

- Principles and a Guide to Practical Management*. Ch. 27. Tokyo, Springer, 2015. pp. 433–447. https://doi.org/10.1007/978-4-431-55642-8_27.
3. Cox K.D., Russo N.L., Villani S.M., Parker D.M., Köller W. QoI qualitative resistance and CYP51A1 upstream anomalies in NY populations of the apple scab pathogen *Venturia inaequalis*. *Phytopathology*, 2008, vol. 98, no. 6, suppl. S, p. S42. Proc. 100th Annu. Meet. of the American Phytopathological Society, July 26–30, 2008. Minneapolis, MN, Am. Phytopathol. Soc., 2008.
 4. Tyuterev S.L. Problems of phytopathogen resistance to new fungicides. *Vestn. Zashch. Rast.*, 2001, no. 1, pp. 38–53. (In Russian)
 5. Nasonov A.I., Yakuba G.V., Marchenko N., Lobodina E.V., Astapchuk I.L. Evaluation of sensitivity of apple scab pathogen to difenoconazole using the discriminatory dose technique. *Proc. Int. Sci. Pract. Conf. "Innovative Technologies in Agriculture" (ITIA 2022)*, 2022, vol. 47, art. 10002. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20224710002>.
 6. Nasonov A.I., Yakuba G.V., Astapchuk I.L. Sensitivity of the Krasnodar population of *Venturia inaequalis* to difenoconazole, an inhibitor of sterol demethylation. *Mikol. Fitopatol.*, 2021, vol. 55, no. 4, pp. 297–308. <https://doi.org/10.31857/S0026364821040103>. (In Russian)
 7. Nasonov A.I., Yakuba G.V., Lobodina E.V. The long-term resistance to carbendazim in *Venturia inaequalis* in the Krasnodar region (Russia). *Mikol. Fitopatol.*, 2022, vol. 56, no. 5, pp. 374–378. <https://doi.org/10.31857/S0026364822050087>. (In Russian)
 8. Nasonov A.I., Yakuba G.V., Astapchuk I.L., Stepanov I.V. *In vitro* sensitivity to cyprodinil in apple scab populations from Krasnodar orchards. *Plodovod. Vinograd. Yuga Ross.*, 2023, no. 79 (1), pp. 186–202. <https://doi.org/10.30679/2219-5335-2023-1-79-186-202>. (In Russian)
 9. Bauske M.J., Gudmestad N.C. Parasitic fitness of fungicide-resistant and -sensitive isolates of *Alternaria solani*. *Plant Dis.*, 2018, vol. 102, no. 3, pp. 666–673. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-17-1268-RE>.
 10. Karaoglanidis G.S., Markoglou A.N., Bardas G.A., Doukas E.G., Konstantinou S., Kalampokis J.F. Sensitivity of *Penicillium expansum* field isolates to tebuconazole, iprodione, fludioxonil and cyprodinil and characterization of fitness parameters and patulin production. *Int. J. Food Microbiol.*, 2011, vol. 145, no. 1, pp. 195–204. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.12.017>.
 11. Iacomi-Vasilescu B., Bataille-Simoneau N., Campion C., Dongo A., Laurent E., Serandat I., Hamon B., Simoneau P. Effect of null mutations in the AbNIK1 gene on saprophytic and parasitic fitness of *Alternaria brassicicola* isolates highly resistant to dicarboximide fungicides. *Plant Pathol.*, 2008, vol. 57, no. 5, pp. 937–947. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2008.01864.x>.
 12. Dorigan A.F., Moreira S.I., Ceresini P.C., Pozza E.A., Belan L.L., da Silveira P.R., Alves E. Higher fitness and competitive advantage of *Pyricularia oryzae* *Triticum* lineage resistant to QoI fungicides. *Pest Manage. Sci.*, 2022, vol. 78, no. 12, pp. 5251–5258. <https://doi.org/10.1002/ps.7144>.
 13. Chapman K.S., Sundin G.W., Beckerman J.L. Identification of resistance to multiple fungicides in field populations of *Venturia inaequalis*. *Plant Dis.*, 2011, vol. 95, no. 8, pp. 921–926. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-10-0899>.
 14. Liu K., Wen Z., Ma Z., Shao W. Biological and molecular characterizations of fluxapyroxad-resistant isolates of *Botrytis cinerea*. *Phytopathol. Res.*, 2022, vol. 4, no. 1, art. 2. <https://doi.org/10.1186/s42483-022-00107-3>.
 15. Lesniak K.E., Proffer T.J., Beckerman J.L., Sundin G.W. Occurrence of QoI resistance and detection of the G143A mutation in Michigan populations of *Venturia inaequalis*. *Plant Dis.*, 2011, vol. 95, no. 8, pp. 927–934. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-10-0898>.
 16. Fiaccadori R. Persistence of *Venturia inaequalis* populations resistant to strobilurins in the field and in the glasshouse. *Am. J. Plant Sci.*, 2018, vol. 9, no. 4, pp. 552–560. <https://doi.org/10.4236/ajps.2018.94042>.
 17. Nasonov A.I. New method of producing of *Venturia inaequalis* culture from ascospores. *Mikol. Fitopatol.*, 2019, vol. 53, no. 1, pp. 46–48. <https://doi.org/10.1134/S0026364819010094>. (In Russian)
 18. Mann–Whitney U test calculator. *Statistics Kingdom*, 2017. URL: <http://www.statskingdom.com>.
 19. Mikaberidze A., McDonald B.A., Bonhoeffer S. Can high-risk fungicides be used in mixtures without selecting for fungicide resistance? *Phytopathology*, 2014, vol. 104, no. 4, pp. 324–331. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-07-13-0204-R>.

20. Milgroom M.G., Levin S.A., Fry W.E. Population genetics theory and fungicide resistance. In: Leonard K.J., Fry N.E. (Eds.) *Plant Disease Epidemiology*. Vol. 2: Genetics, resistance and management. New York, NY, McGraw-Hill Co., 1989, pp. 340–367.
21. Avenot H.F., Michailides T.J. Progress in understanding molecular mechanisms and evolution of resistance to succinate dehydrogenase inhibiting (SDHI) fungicides in phytopathogenic fungi. *Crop Prot.*, 2010, vol. 29, no. 7, pp. 643–651. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.02.019>.
22. Antonovics J., Alexander H.M. The concept of fitness in plant–fungal pathogen systems. In: Leonard K.J., Fry N.E. (Eds.) *Plant Disease Epidemiology*. Vol. 2: Genetics, resistance and management. New York, NY, McGraw-Hill Co., 1989. P. 185–214.
23. Komardina V.S. Culture and morphological characteristics of the apple scab pathogen *Venturia inaequalis* (Cooek.) Wint. (conidial stage *Fusicladium dendriticum* (Wallr.) Fuck) identified from different types of orchards. In: *Zashchita Rastenii: Sbornik Nauchnykh Trudov* [Plant Protection: A Collection of Scientific Articles]. Minsk, Inst. Zashch. Rast. Nats. Akad. Nauk Belarusi, 2006, no. 30, pt. 2, pp. 121–129. (In Russian)
24. Fedorova R.N. *Parsha yabloni* [Apple Scab]. Leningrad, Kolos, 1977. 64 p. (In Russian)
25. Kavak H., Celik A. Comparison of some morphological and physiological characters of apple scab pathogen (*Venturia inaequalis*) in two different agricultural ecology of Turkey. *Erwerbs-Obstbau*, 2021, vol. 63, pp. 47–52. <https://doi.org/10.1007/s10341-020-00540-8>.
26. De Gracia M., Cascales M., Expert P., Bellanger M.-N., Le Cam B., Lemaire C. How did host domestication modify life history traits of its pathogens? *PLoS ONE*, 2015, vol. 10, no. 6, art. e0122909. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122909>.
27. Brush L., Money N.P. Invasive hyphal growth in *Wangiella dermatitidis* is induced by stab inoculation and shows dependence upon melanin biosynthesis. *Fungal Genet. Biol.*, 1999, vol. 28, no. 3, pp. 190–200. <https://doi.org/10.1006/fgbi.1999.1176>.
28. Hignett R.C., Roberts A.L., Larder J.H. Melanoprotein and virulence determinants of *Venturia inaequalis*. *Physiol. Plant Pathol.*, 1984, vol. 24, no. 3, pp. 321–330. [https://doi.org/10.1016/0048-4059\(84\)90005-5](https://doi.org/10.1016/0048-4059(84)90005-5).
29. Steiner U., Oerke E.-C. A melanin-deficient isolate of *Venturia inaequalis* reveals various roles of melanin in pathogen life cycle and fitness. *J. Fungi*, 2022, vol. 9, no. 1, art. 35. <https://doi.org/10.3390/jof9010035>.
30. Hsiang T., Yang L., Barton W. Relative virulence of isolates of *Sclerotinia homoeocarpa* with varying sensitivity to propiconazole. *Eur. J. Plant Pathol.*, 1998, vol. 104, pp. 163–169. <https://doi.org/10.1023/A:1008614832692>.
31. Nasonov A.I., Yakuba G.V. Exploring the phenomenon of “fitness cost” associated with the adaptation of phytopathogenic fungi. *Sovremennaya mikologiya v Rossii. Materialy pyatogo s’ezda mikologov Rossii: sbornik nauchnykh trudov* [Current Mycology in Russia. Proc. 6th Congr. of Russian Mycologists: A Collection of Scientific Articles]. Moscow, Nats. Akad. Mikol., 2022, vol. 9, no. 4, pp. 282–283. (In Russian)
32. Andersson D.I., Hughes D. Antibiotic resistance and its cost: Is it possible to reverse resistance? *Nat. Rev. Microbiol.*, 2010, vol. 8, pp. 260–271. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2319>.

Для цитирования: Насонов А.И., Якуба Г.В., Бардак М.В., Астапчук И.Л., Марченко Н.А. Характеристика приспособленности устойчивых и чувствительных к фунгицидам изолятов *Venturia inaequalis* *in vitro* // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2024. Т. 166, кн. 1. С. 23–37. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.1.23-37>.

For citation: Nasonov A.I., Yakuba G.V., Bardak M.V., Astapchuk I.L., Marchenko N.A. *In Vitro* study of fitness parameters in fungicide-resistant and -sensitive *Venturia inaequalis* isolates. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2024, vol. 166, no. 1, pp. 23–37. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.1.23-37>. (In Russian)

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

УДК 576.08+576.53

doi: 10.26907/2542-064X.2024.1.38-65

**РОЛЬ КЛЕТОК-ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ ПЕЧЕНИ АМФИБИЙ ВИДА
Rana terrestris В ПОСТЭМБРИОНАЛЬНОМ РАЗВИТИИ В УСЛОВИЯХ
ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ НОРМЫ**

Е.И. Антонова¹, Д.И. Омарова², Н.В. Фирсова¹, К.А. Красникова¹

¹Научно-исследовательский центр фундаментальных и прикладных проблем
биоэкологии и биотехнологии, Ульяновский государственный педагогический
университет имени И.Н. Ульянова, г. Ульяновск, 432071, Россия

²Омский государственный педагогический университет,
г. Омск, 644099, Россия

Аннотация

Центром метаболических реакций в организме животных является печень, которая также функционирует как «периферийный интегратор» энергетической потребности организма. Этот орган характеризуется высоким регенераторным потенциалом, который поддерживается за счет пролиферации гепатоцитов, а также гемопоэтических и региональных прогениторных клеток-предшественников печени (LPC). В связи с этим настоящее исследование посвящено изучению роли клеток-предшественников в регенерации печени амфибий вида *Rana terrestris* в условиях физиологической нормы в постэмбриогенезе. Анализ внутрипеченочных и гемопоэтических маркеров методами иммуногистохимии и проточной цитофлуориметрии показал, что на первый год постэмбриогенеза процессы регенерации печени в равной степени осуществляются за счет клеток-предшественников с иммунофенотипом SK19⁺ (внутрипеченочные клетки-предшественники), а также CD34⁺CD45⁺ (популяция гемопоэтических клеток-предшественников) и CD34⁺CD45⁻ (популяция гемангиобластов). На второй и третий год постэмбриогенеза основным источником регенерации печени являются SK19⁺-позитивные клетки и в меньшей мере гемопоэтические источники с иммунофенотипом CD34⁺CD45⁻. Полученные данные во многом определяются средой обитания амфибий, терморегуляцией, а также завершением процессов морфогенеза на третий год постэмбриогенеза. Печень остается на изучаемые сроки постэмбриогенеза органом гемопоэза.

Ключевые слова: печень, стволовый потенциал, гемопоэтические клетки-предшественники, региональные прогениторные клетки-предшественники, регенерация, амфибии, постэмбриогенез, иммунофенотипирование, иммуногистохимия.

Введение

Печень – полифункциональный орган, центр метаболических реакций, который также действует как «периферийный интегратор» энергетической потребности организма, обеспечивает процессы детоксикации и поддержание гомеостаза организма в целом [1–7]. Он развивается как иммунокомпетентный орган кроветворения как в эмбриогенезе, так и в постэмбриогенезе у амфибий [8–11].

Филогенетические отношения среди семейств ныне живущих земноводных составляют основу анализа их происхождения и классификации. Современные исследования в основном сосредоточены на изучении биоразнообразия или эволюции. Исследованиям, в которых рассматривается филогенез печени позвоночных [12], уделяется недостаточное внимание, тогда как филогенетическое исследование печени земноводных может служить оптимальной моделью изучения онтогенеза органа позвоночных [13]. Актуальными являются такие аспекты анализа этого органа, как гистотопография с позиции взаимодействия гепатоцитарно-синусоидальных структур, что особенно интересно для отряда амфибий [13, 14], а также источников регенерации.

Печень является органом с высоким регенераторным потенциалом, причем в ряду земноводных отмечены уникальные механизмы восстановления по сравнению с другими позвоночными [5, 6, 15, 16]. Регенерация печени поддерживается за счет пролиферации гепатоцитов (первый режим регенерации) и клеток-предшественников печени – стволовых гемопоэтических и региональных прогениторных клеток – LPC (второй, альтернативный режим) [17–19]. В связи с этим актуально изучение источников происхождения, активации и роли LPC в процессах физиологической регенерации [5, 20, 21].

LPC называют по-разному – овальными клетками из-за большого отношения ядер к цитоплазме и овальной формы ядер, печеночными клетками-предшественниками, стволовыми клетками печени, протоковыми клетками, так как они располагаются в каналах Геринга [22–27]. Когда первичный режим регенерации работает неэффективно, активация второго режима регенерации запускает дедифференцировку клеток-предшественников в гепатоциты. Также известно, что в случаях, когда не реализуются оба режима регенерации, гепатоциты и холангиоциты функционируют как факультативные стволовые клетки и трансдифференцируются друг в друга для восстановления структуры печени. Так, в частности, отмечено, что СК19-позитивные клетки портальных зон мигрируют по соединительнотканым септам и дифференцируются в клетки двух линий: холангиоциты, формирующие междольковые желчные протоки, и гепатоциты [16, 28]. Происхождение LPC из билиарных эпителиальных клеток подтверждено в различных моделях повреждения печени [29, 30]. Показано, что билиарные эпителиальные клетки дедифференцируются в LPC, а LPC могут дифференцироваться в гепатоциты, популяция которых по окончании регенерации печени вновь дифференцируется в LPC. Данные механизмы, выявленные в печени человека, подтверждаются исследованиями на мышах и рыбках данио [31–34]. В некоторых исследованиях [35–37] рассмотрено предположение, что звездчатые клетки (клетки Ито) печени являются источником LPC и регенерированных гепатоцитов. Другие исследования по отслеживанию клонов не показали превращения звездчатых клеток печени в LPC или гепатоциты при множественных повреждениях печени, что повышает неопределенность в отношении звездчатых клеток печени как источника LPC [35–37].

Взаимодействия клеток-предшественников печени с микроокружением обеспечиваются паракринными механизмами. Несмотря на то, что в настоящее время ни одно антитело не может однозначно определять клетки-предшественники печени, предложены несколько маркеров. LPC экспрессируют как маркеры

гепатоцитов (СК8, СК18, альбумин, Ov6) [38], так и маркеры билиарных эпителиальных клеток (СК7, СК19, EpCAM и SOX9). В зависимости от условий повреждения LPC также экспрессируют гепатобластный маркер α -фетопротеин, гематопозитические маркеры (CD34, CD90, CD133, c-Kit, CXCR4 и Sca1 [39]), маркеры мезенхимальных стволовых/стромальных клеток (CD29, CD44, CD73, CD90, HLA-класса I и др. [40]), маркеры гемопоэтических/эндотелиальных клеток (CD11b, CD14, CD19, CD31, CD34, CD45, CD79 β , CD117, CD133, CD144 и HLA-DR [19]). Различная экспрессия этих маркеров в LPC отражает их гетерогенную природу [41–44].

В связи с этим цель настоящего исследования заключается в анализе топографического распределения клеток-предшественников печени с определением числа клеток с иммунофенотипом стволовых гемопоэтических и региональных прогениторных клеток-предшественников печени амфибий вида *Rana terrestris* как источников регенерации в постэмбриогенезе.

1. Материалы и методики исследования

1.1. Объекты исследования. Исследование проводили на 90 особях – самцах амфибий вида *Rana terrestris* первого (0+, сеголетки), второго (1+) и третьего года (2+) постэмбриогенеза, по 30 особей на каждый период постэмбриогенеза, в летний период. Амфибии выращивались в зоологическом музее Томского государственного университета. На каждый срок постэмбриогенеза проводили забор 30 образцов печени. Масса амфибий в эксперименте на первый год постэмбрионального развития составила 2.3 г, на второй год – 4.7 г, на третий год – 18.7 г. Возраст определяли по размерам тела: до 25 см – сеголетки (первый год), 2.7–5.0 см – двухлетки, 6.0–6.4 см – трехлетки.

1.2. Гистологические исследования. Для анализа гистотопографии образцы печени фиксировали в 10%-ном нейтральном буферном растворе формалина, изготавливали серийные срезы с окраской гематоксилин-эозин по стандартной методике [45].

1.3. Анализ внутрипеченочных и гемопоэтических маркеров проводили методами иммуногистохимии и проточной цитофлуориметрии. Для исследования экспрессии маркеров прогениторных клеток печени и стволовых гемопоэтических клеток использовали антитела к СК19 как маркеры овальных клеток (внутрипеченочные протоковые структуры в области канала Геринга) и CD34 и CD45 как маркеры гемопоэтических стволовых клеток/предшественников согласно оптимизированному в лаборатории протоколу.

1.3.1. Иммуногистохимическое исследование срезов печени. Антигены CD34 (Invitrogen, США) и СК19 (Abcam, Великобритания) при иммуногистохимическом анализе выявляли после предварительного демаскирования методом HIAR (Heat-induced antigen retrieval). После депарафинирования и дегидратации гистологические срезы печени инкубировали с первичными, далее с биотинилированными вторичными антителами (Link, ПраймБиоМед LSAB+Kit Peroxidase), затем промывали и инкубировали со стрептавидином, конъюгированным с пероксидазой хрена (Streptavidin, ПраймБиоМед LSAB+Kit Peroxidase). В качестве субстрата пероксидазной реакции исполь-

зовали раствор аминоэтилкарбазола и пероксида водорода. Морфологический анализ гистологических препаратов проводили с использованием светового микроскопа AxioImagerA1 (Carl Zeiss, Германия), а документацию и морфологическую обработку гистологических срезов – после оцифровки на сканирующем микроскопе Pannoramic SCAN (3DHISTECH, Венгрия) с помощью программного обеспечения ZEN (Carl Zeiss, Германия) с использованием технологии полнослайдовых изображений.

1.3.2. Исследование маркеров методом проточной цитофлуориметрии.

Для исследования экспрессии маркеров использовали моноклональные антитела к CK19, CD34 и CD45 (Beckman Coulter, США). Иммунофенотипирование проводили на проточном цитофлуориметре (Partec CyFlow Space, Германия). Гистограммы анализировали с использованием программного обеспечения FloMax (Германия). В работе были использованы два источника излучения одновременно – синий лазер 488 нм и красный лазер 638 нм, а также 4 цвета (FL1–FL3 + FL4).

1.4. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета программного обеспечения Prism 8.0.1 (Graphpad, США). Для установления нормальности распределения данных использовали метод Шапиро – Уилка, поскольку распределение данных является нормальным, то для статистической обработки данных были использованы параметрические методы. На начальном этапе анализа полученных количественных данных использовали методы описательной статистики. Для каждой выборки рассчитывали среднее значение (Mean) и среднеквадратичное отклонение (SD). Статистическую значимость различий значений оценивали по критериям параметрической статистики: для сравнения двух независимых групп применялся *t*-критерий Уэлча, для сравнения нескольких групп – ANOVA-тест Уэлча, для выявления степени сопряженности исследуемых показателей – корреляционный анализ Спирмена (*r*). При проверке статистических гипотез достоверными считались различия при критических уровнях значимости: * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$, **** – $p < 0.0001$.

2. Результаты и обсуждение

Эволюционные траектории морфогенетических процессов определяют формирование нового фенотипа органа относительно среды обитания [46]. При этом гистологические критерии широко используются в качестве биомаркеров [9, 46]. Эта категория биомаркеров позволяет исследовать конкретные органы-мишени, в том числе печень, отвечающие за жизненно важные функции и гомеостаз организма в целом в период эмбрионального развития, метаморфоза и постэмбриогенеза [1, 13], демонстрируя возможную гистологическую эволюционную тенденцию внутри подтипа позвоночных [48].

В ходе проведенных исследований отмечены гистотопографические особенности в организации печеночной ткани, которые оказывают влияние на функционирование печени амфибий вида *Rana terrestris* как организма с эктотермной терморегуляцией, функционирующего в условиях пониженного парциального давления O_2 в крови, со сформированными в ходе эво-

люции адаптациями к быстрой реоксигенации, а также большим размером генома. Концентрация O_2 может быть ограничивающим фактором для клеток большого размера, таких, например, как гепатоциты у организмов с водной средой обитания по сравнению с организмами с наземной средой обитания [49]. Учитывая, что метаболическая активность является важным фактором успешности адаптации позвоночных к среде обитания, такая естественная физиологическая адаптация, когда гипоксическое состояние резко сменяется гипероксическим вследствие реоксигенации [50, 51], поддерживается за счет катаболизма липидов в качестве источников энергии. Низкая активность работы Na^+/K^+ -насосов у эктотермных животных определяет и более низкий уровень аэробного энергетического обмена, а также модификацию ферментов. В свою очередь, модификация ферментов аэробного энергетического обмена определяет снижение его кинетических свойств в ответ на гипоксию, тогда как степень метаболической депрессии определяется биологической зрелостью гепатоцитов [52].

Установлено, что от первого к третьему году постэмбриогенеза большая часть паренхимы представлена паренхимными (гепатоцитами) и непаренхимными клетками. Большая часть гепатоцитов не вступает в непосредственный контакт с сосудистым руслом, что ограничивает их доступ к поступлению кислорода, питательных веществ и, таким образом, влияет на метаболические показатели и функционирование органа в целом [4]. В свою очередь, низкая скорость метаболизма ослабляет селективное давление на метаболическую функцию органа без негативного влияния на адаптацию организма в целом. Это определило в ходе эволюции увеличение размера гепатоцитов за счет увеличения размера генома [46]. Так, известна положительная корреляция между размером генома и размером клетки в результате полиплоидизации [4, 53–56], что проявляется в развитии гипометаболизма, удлинении клеточного цикла, снижении скорости дифференцировки клеток. Учитывая, что размер генома коррелирует с уменьшением числа сосудистых структур, морфогенез обеспечивается за счет взаимодействий между меньшим количеством более крупных клеток [57].

Структурной и функциональной единицей печени амфибий вида *Rana terrestris* является ацинус (рис. 1–3), что согласуется с литературными данными [9, 48, 58]. Портальные тракты (перипортальная, афферентная зона) включают ветви воротной вены и печеночной артерии, желчные протоки и лимфатические сосуды, которые окружены соединительной тканью (глиасовая капсула). Отличительной особенностью является то, что печеночные артериолы и желчные протоки могут располагаться как в составе портального тракта – портально-трактовый тип, так и отдельно в паренхиме – изолированный тип (рис. 2, б). Эти отличия от гистотопографии млекопитающих объясняются особенностями метаболической активности, которые сформировались в ходе эволюции, носят адаптивный характер и являются примером избирательной специализации органа [46, 48]. Выделяют также область центральной вены (перивенулярная зона, эфферентная). В пределах центролобулярной, или промежуточной, зоны печеночного ацинуса отмечаются гемопоэтические узелки (рис. 2, б).

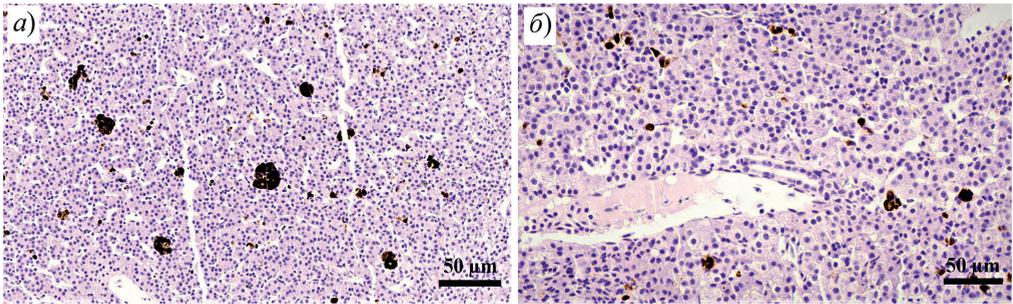


Рис. 1. Гистотопография печени амфибий вида *Rana terrestris*. Сеголетки. Окраска гематоксилин-эозин. Меланомacroфагальные центры (а), меланомacroфагальные центры в области портального тракта (б). Увеличение 200×

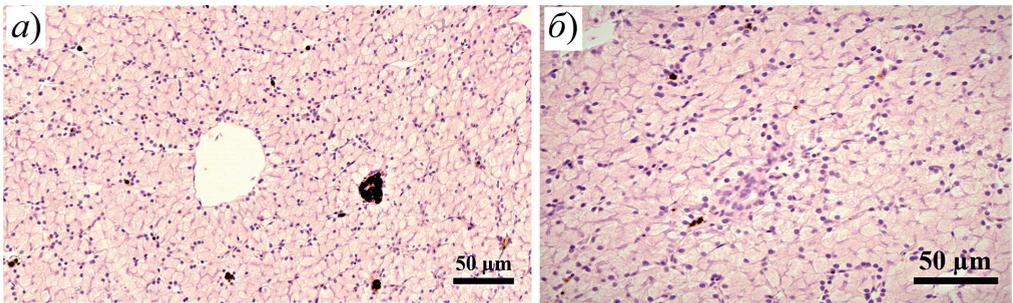


Рис. 2. Гистотопография печени амфибий вида *Rana terrestris*. Двухлетки. Окраска гематоксилин-эозин. Меланомacroфагальные центры в области центральной вены (а), изолированный желчный проток с гемопоэтическими клетками (б). Увеличение 200×

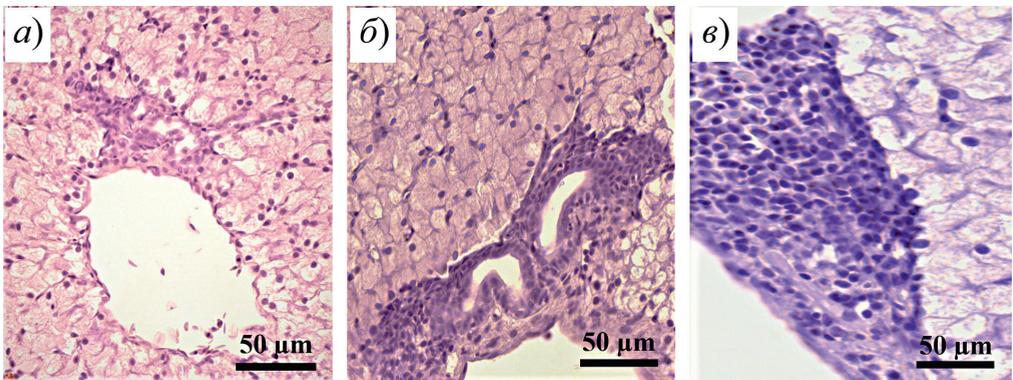


Рис. 3. Гистотопография печени амфибий вида *Rana terrestris*. Двухлетки. Окраска гематоксилин-эозин. Область портального тракта с гемопоэтическими клетками, (а и б), субкапсулярная зона с гемопоэтическими клетками (в). Увеличение 200×

Как видно из рис. 1–4, гепатоциты имеют неправильную форму, пяти- или шестигранную, с расширенной базальной частью и суженной апикальной, что делает их похожими на усеченные пирамиды. Ядра гепатоцитов с одним или двумя ядрышками, цитоплазма с признаками жировой вакуолизации. Большое количество липидов рассматривается как альтернативный источник глюконеогенеза, а также является адаптивной структурной модификацией, которая в ходе эволюции позволила расширить адаптивную зону амфибий в связи с переходом

с водной к наземной среде обитания [48, 59]. К третьему году цитоплазма гепатоцитов становится обильно зернистой (рис. 4).

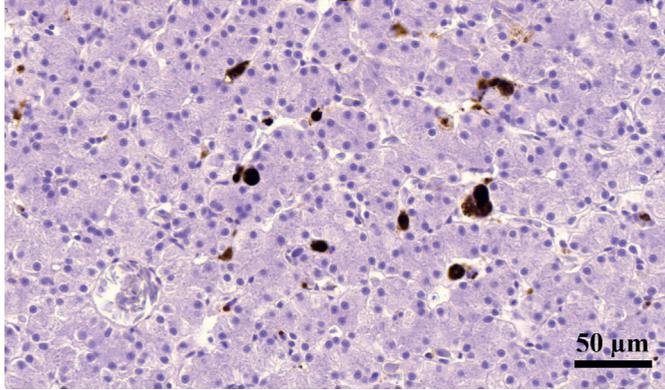


Рис. 4. Гистотопография печени амфибий вида *Rana terrestris*. Трехлетки. Окраска гематоксилин-эозин. Меланомacroфагальные центры и полнокровная центральная вена с эритроцитами. Увеличение 200×

На первый год постэмбриогенеза (рис. 1) паренхима печени амфибий вида *Rana terrestris* в большей части организована гепатоцитами в виде трубчатых структур. На второй год наряду с трубчатыми отмечаются короткие структуры в два ряда гепатоцитов и трабекулы. На третий год наблюдается гистотопография паренхимы печени комбинированного типа (рис. 4). Просвет синусоидных капилляров (емкостное звено) формирует различного рода петли (вазо- и цитозональные [13]), либо наблюдаются узкие и короткие извитые капилляры. В просвете отдельных синусоидных капилляров, а также в области сосудов портальных трактов отмечаются многочисленные гемопоэтические клетки, что также соответствует литературным данным [13]. В просвете сосудов венозного звена отмечаются эритроциты в умеренном количестве (рис. 4). Таким образом, полученная нами гистотопография печени амфибий вида *Rana terrestris* близка к организации паренхимы печени млекопитающих [13, 52, 60] и отличается от таковой для рыб [13, 52, 60]. Трабекулярное расположение гепатоцитов толщиной от одной до двух клеток (рис. 1, 2, 4) увеличивает площадь поверхности каждого гепатоцита, находящегося в контакте с циркулирующей кровью [46].

В ходе проведенных исследований амфибий вида *Rana terrestris* выявлены особенности взаимосвязи гистотопографии печени и кроветворной ткани. Так, в первый год постэмбриогенеза в печени отмечено скопление гемопоэтических клеток в области портальных трактов и в субкапсулярной области, а также гемопоэтических узелков во второй зоне ацинуса (рис. 3), что соответствует данным других исследований [13]. Таким образом, эти области можно охарактеризовать как ниши/«почки» остаточного гемопоэза, в которых локализованы гистиоцитарная и эритробластная популяции клеток крови, а также присутствуют лимфоцитарные и гранулоцитарные предшественники. Несмотря на то, что в постэмбриогенезе основным органом кроветворения является красный костный мозг, выявленная нами остаточная активность гемопоэза с первого по третий год постэмбриогенеза [6] носит

адаптивный характер. И если у млекопитающих кроветворение происходит в красном костном мозге и лимфоидных органах, а коммитированные миелоидные предшественники далее дифференцируются в клетки с мегакариоцитарно-эритроидным или гранулоцитарно-макрофагальным потенциалом, то у амфибий периферическая часть печени (субкапсулярная) функционирует как основное место кроветворения и содержит мегакариоцитарно-эритроидный росток, а клетки гранулоцитарно-макрофагального ростка локализованы в костном мозге [8–10, 61].

Синусоидные капилляры выстланы эндотелиальными клетками и клетками Купфера. Эндотелиальные клетки печени обеспечивают регуляцию венозного и артериального кровотока. С током крови в печень поступают сигнальные молекулы, которые также обеспечивают реализацию процессов физиологической регенерации [62]. Как видно из рис. 1–4, на всех сроках постэмбриогенеза отмечается большое количество клеток Купфера в виде популяций как одиночно лежащих меланомакрофагов, так и меланомакрофагов, собранных в меланомакрофагальные центры. Меланомакрофаги и связанные с ними клетки Купфера, которые содержат меланин, липофусцин и гемосидерин, действуют как фагоциты, а также обеспечивают распознавание антигена, определяя течение иммунных реакций в печени, связанных как с врожденными, так и со специфическими адаптивными иммунными механизмами [6, 63–65]. Большое количество меланомакрофагов, по-видимому, связано также с первичным меланогенезом [60] и утилизацией разрушенных эритроцитов [66]. Меланин способен поглощать и нейтрализовывать свободные радикалы и другие ксенобиотики [65]. Отмеченное большое количество меланомакрофагов поддерживается пролиферацией клеток Купфера, которая, в свою очередь, сопряжена с $CD11b^+$ -моноцитами крови. Кроме того, клетки Купфера паракринно посредством продукции IL-6, фактора некроза опухоли и трансформирующих факторов роста бета-1 и альфа обеспечивают регенерацию печени. При этом терминальная дифференцировка клеток обеспечивается сигналами от звездчатых клеток печени, гепатоцитов и эндотелиальных клеток [67].

Органогенез, в отличие от регенерации, реализуется в период эмбрионального развития посредством сложных процессов, включающих формирование зачатка органа, который возникает из стволовых клеток, и последующий морфогенез, определяющий уникальную морфологию и функции органа [68]. В свою очередь, морфогенез в онтогенезе обусловлен рядом скоординированных биохимических и морфогенетических процессов, в том числе регулируемой клеточной пролиферацией, миграцией клеток и цитодифференцировкой. Цитокоммуникации клеток органа обеспечивают передачу позиционной и детерминированной информации друг другу, обеспечивая индукцию образования тканей и органогенез [69].

Уникальная регенеративная способность печени обеспечивает поддержание гомеостаза организма в ряду от рыб до млекопитающих [70]. Печень является единственным органом, который использует регенеративные механизмы для обеспечения гепатостата, т. е. поддержания размера печени на уровне 100% от того, который необходим для гомеостаза [62]. Регенерация печени млекопитающих реализуется по пути компенсаторной гипертрофии, при которой объем органа увеличивается за счет гипертрофии и гиперплазии [71, 72]. Клеточные и мо-

лекулярные механизмы, лежащие в основе компенсаторной гипертрофии, также отмечаются в процессах регенерации печени у амфибий, которая представляет собой сложный процесс с участием эндотелиальных клеток, стволовых гемопоэтических клеток, внутрипеченочных клеток-предшественников и регулируется сетью цитокинов, включая фактор роста гепатоцитов, эпидермальный фактор роста, фактор некроза опухоли, фактор роста эндотелия сосудов, Wnt/ β -катенин и трансформирующий фактор роста бета-1 [62].

Исследование экспрессии маркеров стволовых гемопоэтических и региональных клеток-предшественников с иммунофенотипом CD34⁺CD45⁺, CD34⁺CD45⁻ и СК19⁺ методом проточной цитофлуориметрии представлено на рис. 5.

Проведенные исследования по определению роли стволового потенциала в физиологической регенерации печени амфибий вида *Rana terrestris* на первый, второй и третий год постэмбриогенеза методом проточной цитофлуориметрии выявили особенности в соотношении и роли гемопоэтических и внутрипеченочных стволовых клеток (табл. 1).

Табл. 1

Динамика показателей маркеров стволовых гемопоэтических и региональных клеток-предшественников на первый, второй и третий год постэмбриогенеза амфибий вида *Rana terrestris*

Маркеры	Число клеток в 1 мл		
	Сеголетки	Двухлетки	Трехлетки
CD34 ⁺ CD45 ⁺	4283 ± 2156	3092 ± 1553 $p_1 = 0.053$	1500 ± 279 $p_2 = 0.0002^{**}, p_3 < 0.0001^{***}$
CD34 ⁺ CD45 ⁻	5506 ± 1374	5871 ± 3483 $p_1 = 0.67$	4954 ± 1785 $p_2 = 0.30, p_3 = 0.28$
СК19 ⁺	5536 ± 1568	6836 ± 2860 $p_1 = 0.09$	9780 ± 3393 $p_2 = 0.005^*, p_3 < 0.0001^{***}$

Примечание: p_1 – уровень статистической значимости различий между первым и вторым годом; p_2 – между вторым и третьим годом; p_3 – между первым и третьим годом. * – $p < 0.01$, ** – $p < 0.001$, *** – $p < 0.0001$.

С помощью параметрического ANOVA-теста Уэлча (W) проведено сравнение средних значений в каждой исследуемой группе относительно анализируемых маркеров. Выявлено (табл. 1), что количество CD34⁺CD45⁺-позитивных клеток статистически значимо отличается на анализируемых сроках постэмбриогенеза ($W = 25.36, p < 0.0001$). Сравнительный анализ динамики данного показателя выявил стойкое снижение от первого к третьему периоду постэмбриогенеза. Так, в частности, уменьшение числа CD34⁺CD45⁺-позитивных клеток от первого года к третьему составляет 65% (2783 ± 486 клеток/мл, $p < 0.0001$), на второй год – на 28% (1191 ± 594 клеток/мл, $p = 0.06$) по сравнению с первым годом и на третий год – на 51% (1592 ± 353 клеток/мл, $p = 0.002$) по сравнению со вторым годом.

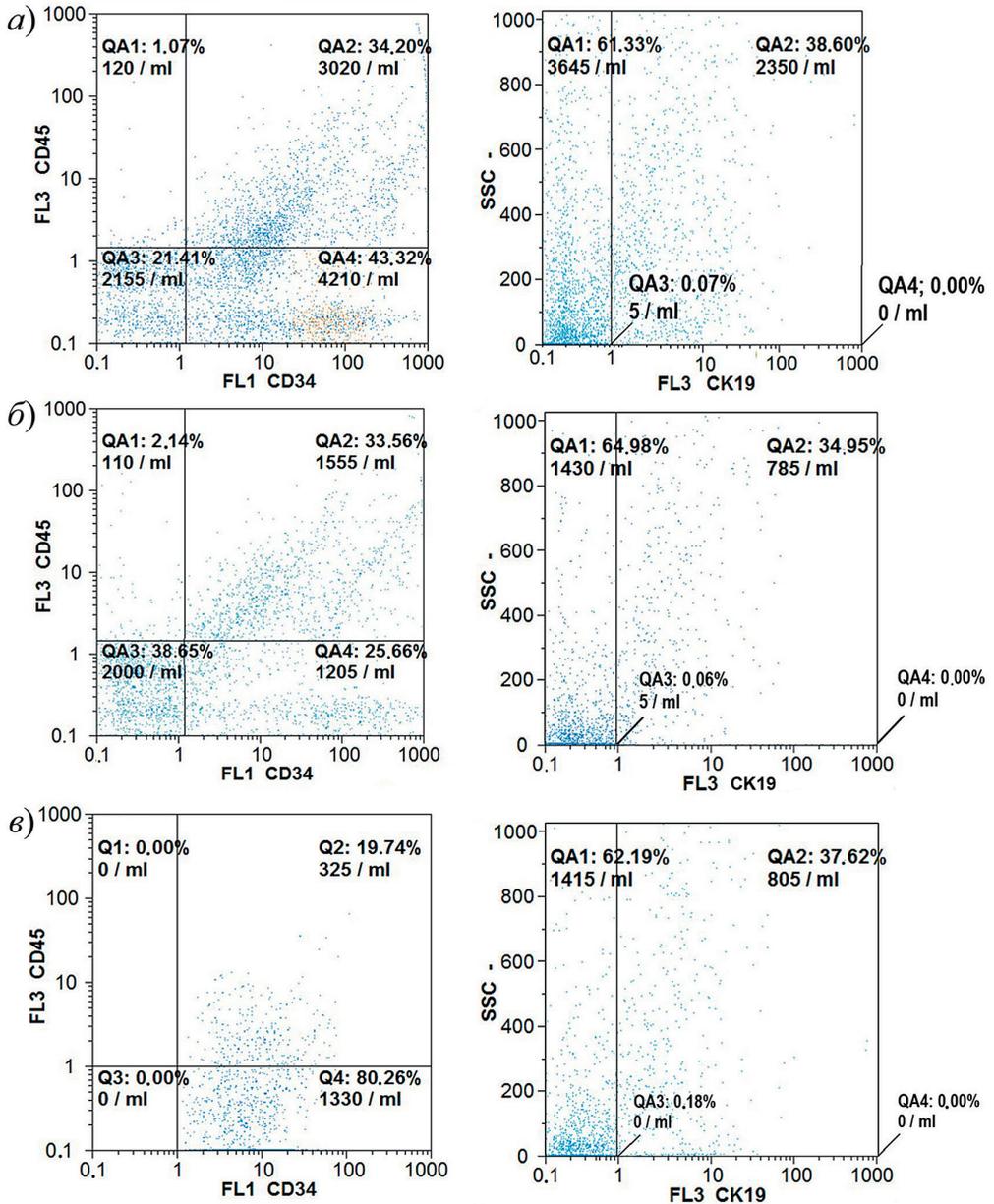


Рис. 5. Динамика числа клеток-маркеров стволовых гемопоэтических и региональных клеткопредшественников с иммунофенотипом CD34⁺CD45⁺, CD34⁺CD45⁻ и CK19⁺ на первый (а), второй (б) и третий (в) год постэмбриогенеза в печени амфибий вида *Rana terrestris* по данным проточной цитофлуориметрии

Различия в количестве CD34⁺CD45⁻-позитивных клеток для рассматриваемых сроков постэмбриогенеза не достигают статистически значимого уровня ($W = 0.83$, $p = 0.44$). С первого по третий год постэмбриогенеза количество CD34⁺CD45⁻-клеток снижается на 10% ($p = 0.28$). На второй год количество CD34⁺CD45⁻-клеток увеличивается на 7% ($p = 0.67$) по сравнению с первым годом, а к третьему году снижается на 16% по сравнению со вторым годом ($p = 0.30$).

Количество СК19⁺-клеток статистически значимо отличается на анализируемых сроках постэмбриогенеза ($W = 12.93$, $p < 0.0001$). Сравнительный анализ динамики данного показателя выявил стойкое увеличение от первого к третьему периоду постэмбриогенеза. Так, в частности, увеличение числа СК19⁺-позитивных клеток от первого к третьему году постэмбриогенеза составляет 77% (4243 ± 836 клеток/мл, $p < 0.0001$), на второй год – на 23% (1300 ± 729 клеток/мл, $p = 0.09$) по сравнению с первым годом и на третий год – на 43% (2944 ± 992 клеток/мл, $p = 0.005$) по сравнению со вторым годом.

Количество СК19⁺-позитивных клеток в печени сеголеток (рис. 5, а) амфибий вида *Rana terrestris* на 23% больше, чем число CD34⁺CD45⁺-позитивных клеток (1254 ± 596 клеток/мл, $p = 0.04$) и примерно равно количеству CD34⁺CD45⁻-позитивных клеток ($p = 0.95$). Количество CD34⁺CD45⁺-позитивных клеток на 22% меньше, чем число CD34⁺CD45⁻-позитивных клеток (1224 ± 572 клеток/мл, $p = 0.04$). Соотношение CD34⁺CD45⁺-, CD34⁺CD45⁻- и СК19⁺-позитивных клеток в печени сеголеток составляет 0.8 : 1 : 1 соответственно.

Количество СК19⁺-позитивных клеток в печени амфибий вида *Rana terrestris* на второй год постэмбриогенеза (рис. 5, б) на 55% больше числа CD34⁺CD45⁺-позитивных клеток (3744 ± 728 клеток/мл, $p < 0.0001$) и примерно равно количеству CD34⁺CD45⁻-позитивных клеток ($p = 0.34$). Количество CD34⁺CD45⁺-позитивных клеток меньше числа CD34⁺CD45⁻-позитивных клеток на 47% (2779 ± 853 клеток/мл, $p = 0.003$). Соотношение CD34⁺CD45⁺-, CD34⁺CD45⁻- и СК19⁺-позитивных клеток на второй год постэмбриогенеза составляет 0.5 : 0.9 : 1 соответственно. Таким образом, на второй год постэмбриогенеза сохраняется общая тенденция увеличения количества СК19⁺-позитивных клеток относительно числа CD34⁺CD45⁺-позитивных клеток и примерно одинаковое количество СК19⁺- и CD34⁺CD45⁻-позитивных клеток. Увеличение доли СК19⁺-позитивных клеток отмечается на фоне снижения доли CD34⁺CD45⁺-позитивных клеток в сравнении с первым годом постэмбриогенеза.

На третий год постэмбриогенеза (рис. 5, в) по данным проточной цитофлуориметрии количество СК19⁺-позитивных клеток на 85% больше количества CD34⁺CD45⁺-позитивных клеток (8280 ± 761 клеток/мл, $p < 0.0001$) и на 49% – CD34⁺CD45⁻-позитивных клеток (4825 ± 857 клеток/мл, $p < 0.0001$). В свою очередь, число CD34⁺CD45⁺-позитивных клеток на 70% меньше числа CD34⁺CD45⁻-позитивных клеток (3454 ± 404 клеток/мл, $p < 0.0001$). Соотношение CD34⁺CD45⁺-, CD34⁺CD45⁻- и СК19⁺-позитивных клеток составляет 0.2 : 0.5 : 1 соответственно. Таким образом, на третий год постэмбриогенеза сохраняется общая тенденция увеличения количества СК19⁺-позитивных клеток по сравнению с количеством CD34⁺CD45⁺-позитивных клеток, которая выявлена на первый и второй год постэмбриогенеза. Однако отличительной особенностью является резкое снижение числа CD34⁺CD45⁺-позитивных клеток с выраженным увеличением числа СК19⁺-позитивных клеток.

Корреляционный анализ исследуемых маркеров в разные периоды постэмбриогенеза (рис. 6) выявил, что количество гемопоэтических стволовых клеток с иммунофенотипом CD34⁺CD45⁺ проявляет положительную сопряженность с количеством гемопоэтических стволовых клеток с иммунофенотипом CD34⁺CD45⁻ ($r = 0.653$, $p = 0.002$) на второй год постэмбриогенеза, а также с количеством

прогениторных клеток-предшественников печени с иммунофенотипом СК19⁺ ($r = 0.563$, $p = 0.010$) на третий год. Кроме того, количество клеток с иммунофенотипом СК19⁺ положительно сопряжено с количеством клеток с иммунофенотипом CD34⁺CD45⁻ ($r = 0.652$, $p = 0.002$) на второй год постэмбриогенеза.

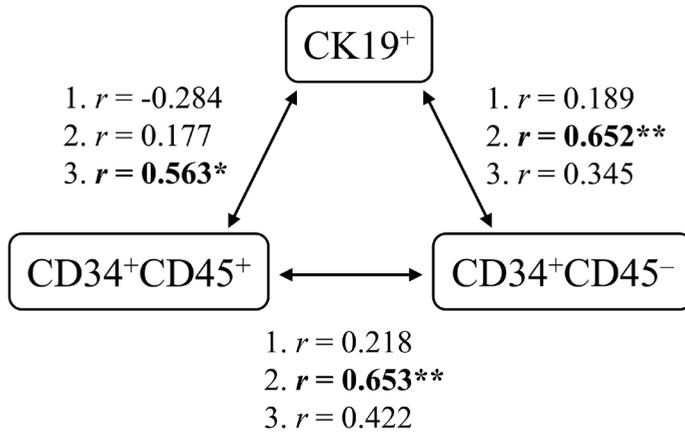


Рис. 6. Корреляция между CD34⁺CD45⁺, CD34⁺CD45⁻ и СК19⁺ в разные периоды постэмбриогенеза в печени амфибий вида *Rana terrestris*. r – коэффициент ранговой корреляции. Статистически значимыми считались данные при $*p < 0.05$ и $**p < 0.01$

Определенные зоны локализации CD34-позитивных и СК19-позитивных клеток иммуногистохимически не выявлены. Данные популяции клеток отмечаются в области портального тракта, в области гемопоэтических островков, по ходу синусоидных капилляров в области субкапсулярной зоны (рис. 7). Последние исследования демонстрируют, что все гепатоциты во всех зонах ацинуса участвуют в медленной пролиферации гепатоцитов, которая связана с поддержанием массы печени в условиях физиологической нормы. Избирательная регенеративная пролиферация, исходящая из перипортальных областей, отсутствует. Таким образом, можно говорить о «демократической» роли равного участия всех гепатоцитов в поддержании физиологического состояния органа и в процессах физиологической регенерации. Когда гепатоциты вступают в хроническую компенсаторную пролиферацию, типично полиплоидные гепатоциты постепенно возвращаются в основном к диплоидному статусу [60].

Гемопоэтические стволовые клетки и стволовые/прогениторные клетки играют ключевую роль в развитии печени [5, 40, 44, 73]. Выявленное в ходе исследований стойкое снижение числа CD34⁺CD45⁺-позитивных гемопоэтических стволовых клеток от первого к третьему году постэмбриогенеза на фоне обратной тенденции увеличения числа СК19⁺-позитивных клеток как внутрипеченочных предшественников гепатоцитов отражает роль стволового потенциала в механизмах клеточной регенерации печени в постэмбриональном развитии.

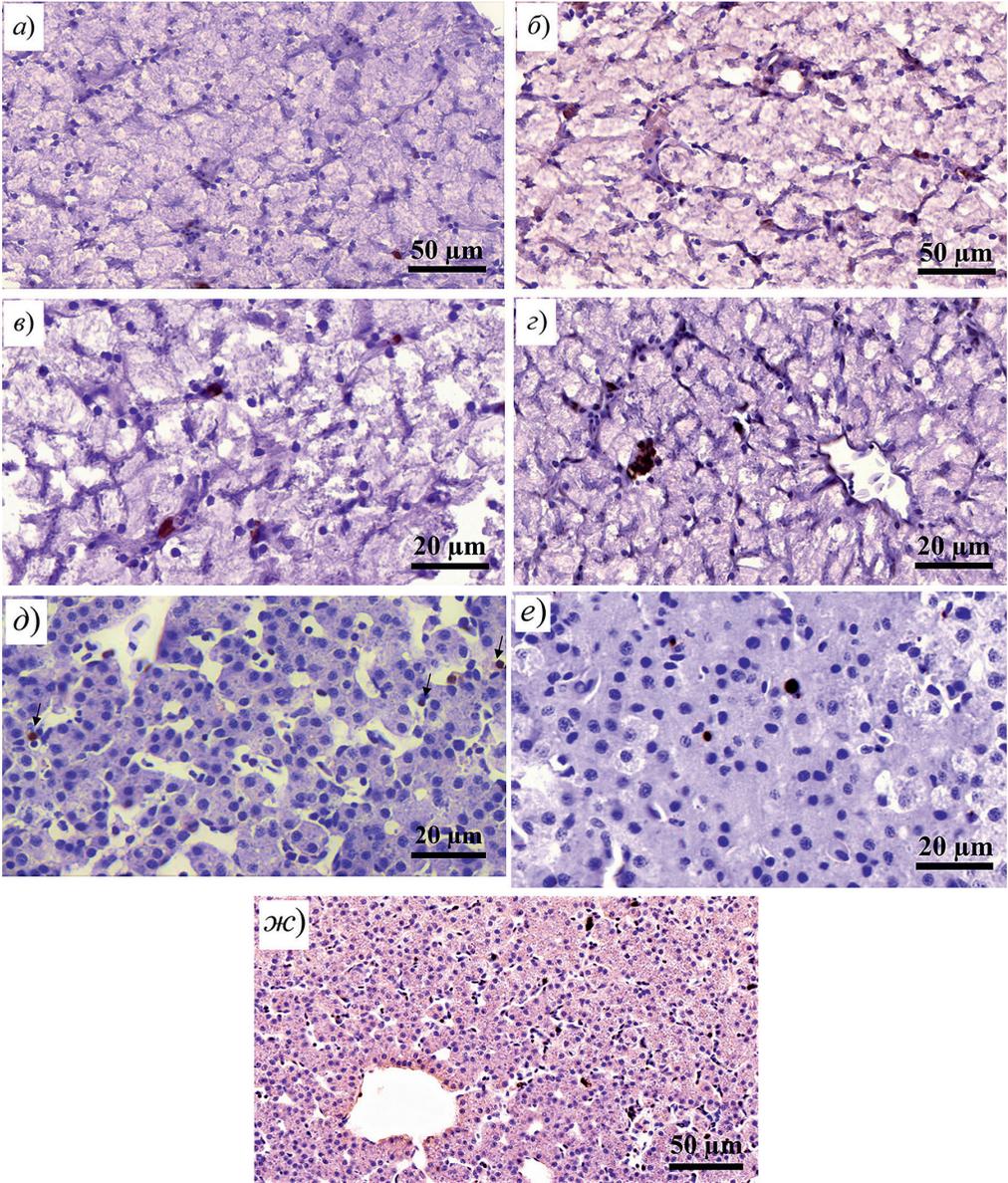


Рис. 7. Печень амфибий вида *Rana terrestris*. Окраска CD34⁺-клетки: а-г – сеголетки (области гемопоэтических островков (а-в) и центральной вены (г)); д – двухлетки; е – трехлетки, увеличение 200×; ж – трехлетки, окраска СК19⁺-клетки в области центральной вены, увеличение 100×

Известно, что СК19 является маркером овальных клеток (LPC, putative hepatic stem cells, региональные прогениторные клетки). LPC экспрессируют факторы транскрипции гепатоцитов и холангиоцитов [16, 28, 40, 44, 74, 75], т. е. функционируют как бипотенциальные клетки-предшественники [16, 43, 76, 77]. LPC являются остатками эмбриональной протоковой пластинки и считаются «гибридными» клетками [78, 79]. Существуют убедительные доказательства происхождения клеток-предшественников из билиарных эпителиальных клеток [5, 30, 32, 80, 81], которые разрастаются из портальных триад и постепенно

трансформируются в малые и зрелые гепатоциты [25, 82, 83]. Исследования показали, что описанные выше механизмы второго режима регенерации печени, которые запускаются у млекопитающих в условиях повреждения печени, у амфибий вида *Rana terrestris* протекают в условиях физиологической регенерации. По литературным данным локализация СК19-клеток в основном отмечается в области портального тракта и связана с экспрессией трансформирующего фактора роста бета-1 [67]. В более позднем исследовании [84] физиологическая регенерация гепатоцитов обнаружена рядом с центральной веной, где сигналы Wnt от эндотелиальных клеток центральной вены обеспечивают преимущество пролиферации соседних гепатоцитов. В нашем исследовании СК19⁺-позитивные клетки рассредоточены в пределах всех зон ацинуса.

Участие билиарных клеток в альтернативных путях регенерации во многом определяется Yes-ассоциированным белком 1 и его взаимодействием с желчными кислотами [85, 86]. «Почки» клеток-предшественников, происходящих из холангиоцитов, служат сайтами для дальнейшей продукции гепатоцитов [87, 88]. При этом СК19⁺-позитивные клетки отрицательны в отношении гематопоэтических маркеров CD34 и CD45 [19, 89]. Выявленное нами увеличение числа СК19⁺-позитивных клеток отражает формирование в постэмбриогенезе пула внутрипеченочных предшественников как источника процессов трансдифференцировки «протоковых гепатоцитов».

В печени сеголеток амфибий вида *Rana terrestris* отмечено примерно равное соотношение числа позитивных клеток с иммунофенотипом СК19⁺, CD34⁺CD45⁺ и CD34⁺CD45⁻. На второй и третий год постэмбриогенеза отмечено значительное снижение числа CD34⁺CD45⁻-позитивных клеток, тогда как число CD34⁺CD45⁻-позитивных клеток остается на уровне первого года постэмбриогенеза (несмотря на отсутствие значимых показателей). Данная динамика отражает большую роль гемопоэтических стволовых клеток, которую они играют в механизмах физиологической регенерации печени амфибий вида *Rana terrestris*. Известно, что клеточная популяция с иммунофенотипом CD34⁺CD45⁻ относится к популяции гемангиобластов, а CD34⁺CD45⁺ – к популяции гемопоэтических клеток-предшественников. Антиген CD34 экспрессируется практически всеми гемопоэтическими клетками-предшественниками, в том числе мультипотентными стволовыми клетками, тогда как антиген CD45 экспрессируется всеми типами гемопоэтических клеток, за исключением зрелых эритроцитов и их непосредственных предшественников [28, 42–44]. Эти антитела не обнаруживаются в дифференцированных негемопоэтических тканях. Следовательно, выявленные в паренхиме печени гемопоэтические зоны (островки в паренхиме, в области портального тракта и в области субкапсулярной зоны) являются зонами гемопоэза в исследуемые периоды постэмбриогенеза, что согласуется с литературными данными [8–10, 61]. В свою очередь CD34-позитивные клетки могут быть источником билиарного эпителия, а выявленная нами «демократическая» локализация стволовых клеток по всем зонам ацинуса подразумевает, что они повсеместно присутствуют в печени [90].

Таким образом, роль стволового потенциала в реализации физиологической регенерации печени амфибий вида *Rana terrestris* на первый год постэмбриогенеза проявляется в равномерном участии как региональных прогениторных клеток-предшественников печени с иммунофенотипом СК19⁺, так и гемопо-

этических стволовых клеток-предшественников гепатоцитов CD34⁺CD45⁺ и CD34⁺CD45⁻. На второй год отмечено уменьшение доли гемопоэтических стволовых клеток-предшественников гепатоцитов с иммунофенотипом CD34⁺CD45⁺ на фоне увеличения числа клеток с иммунофенотипом СК19⁺. На третий год основным источником поддержания гепатостата печени со стороны клеток-предшественников являются СК19⁺клетки, т. е. региональные предшественники, и в меньшей мере гемопоэтические стволовые клетки – гемангиобласты с иммунофенотипом CD34⁺CD45⁻. Полученные данные во многом определяются средой обитания амфибий, терморегуляцией, завершением процессов морфогенеза, фактом того, что печень остается на изучаемые сроки постэмбриогенеза органом гемопоэза, а также большим размером генома амфибий.

Заключение Комитета по этике. Исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией 2000 г. «О гуманном отношении к животным», Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS N 123) и Директивой Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/ЕС о защите животных, использующихся для научных целей.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Gernhöfer M., Pawert M., Schramm M., Müller E., Triebkorn R. Ultrastructural biomarkers as tools to characterize the health status of fish in contaminated streams // J. Aquat. Ecosyst. Stress Recovery. 2001. V. 8, No 3–4. P. 241–260. <https://doi.org/10.1023/A:1012958804442>.
2. Young B., Woodford P., O'Dowd G. Wheater's Functional Histology: A Text and Colour Atlas. 6th ed. London: Churchill Livingstone, 2013. 464 p.
3. Akulenko N.M., Dziubenko N.V., Marushchak O.Yu., Nekrasova O.D., Oskyrko O.S. Histological changes in common toad, *Bufo bufo* (Anura, Bufonidae), liver tissue under conditions of anthropogenically transformed ecosystems // Vestn. Zool. 2019. V. 53, No 6. P. 501–506. <https://doi.org/10.2478/vzoo-2019-0045>.
4. Gardner J.D., Laurin M., Organ C.L. The relationship between genome size and metabolic rate in extant vertebrates // Phil. Trans. R. Soc., B. 2020. V. 375, No 1793. Art. 20190146. <https://doi.org/10.1098/rstb.2019.0146>.
5. So J., Kim A., Lee S.-H., Shin D. Liver progenitor cell-driven liver regeneration // Exp. Mol. Med. 2020. V. 52, No 8. P. 1230–1238. <https://doi.org/10.1038/s12276-020-0483-0>.
6. Leão T., Siqueira M., Marcondes S., Franco-Belussi L., De Oliveira C., Fernandes C.E. Comparative liver morphology associated with the hepatosomatic index in five Neotropical anuran species // Anat. Rec. 2021. V. 304, No 4. P. 860–871. <https://doi.org/10.1002/ar.24540>.
7. Dagli M.L.Z., Chaible L.M., Steiger K. Liver and pancreas: Ch. 15 // Sundberg J.P., Vogel P., Ward J.M. (Eds.). Pathology of Genetically Engineered and Other Mutant Mice. Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell, 2021. P. 307–335. <https://doi.org/10.1002/9781119624608.ch15>.
8. Moore M.A.S. Commentary: The role of cell migration in the ontogeny of the lymphoid system // Stem Cells Dev. 2004. V. 13, No 1. P. 1–21. <https://doi.org/10.1089/154732804773099218>.
9. Sayed A.E.-D.H., Elballouz A.I., Wassif E.T. Histological and histochemical studies on the early developmental stages of the Egyptian toad *Bufo regularis* Reuss // Open J. Anim. Sci. 2015. V. 5, No 2. P. 142–156. <https://doi.org/10.4236/ojas.2015.52017>.

10. *Yaparla A., Reeves P., Grayfer L.* Myelopoiesis of the amphibian *Xenopus laevis* is segregated to the bone marrow, away from their hematopoietic peripheral liver // *Front. Immunol.* 2020. V. 10. Art. 3015. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.03015>.
11. *Nagy P., Thorgeirsson S.S., Grisham J.W.* Organizational principles of the liver: Ch. 1. // *Arias I.M., Alter H.J., Boyer J.L., Cohen D.E., Shafritz D.A., Thorgeirsson S.S., Wolkoff A.W.* (Eds.). *The Liver: Biology and Pathobiology.* Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell, 2020. P. 1–13. <https://doi.org/10.1002/9781119436812.ch1>.
12. *Saito M., Kitamura H., Sugiyama K.* Liver gangliosides of various animals ranging from fish to mammalian species // *Comp. Biochem. Physiol., Part B: Biochem. Mol. Biol.* 2001. V. 129, No 4. P. 747–758. [https://doi.org/10.1016/S1096-4959\(01\)00379-7](https://doi.org/10.1016/S1096-4959(01)00379-7).
13. *Akiyoshi H., Inoue A.M.* Comparative histological study of hepatic architecture in the three orders amphibian livers // *Comp. Hepatol.* 2012. V. 11, No 1. Art. 2. <https://doi.org/10.1186/1476-5926-11-2>.
14. *Akiyoshi H., Inoue A.M.* Comparative histological study of teleost livers in relation to phylogeny // *Zool. Sci.* 2004. V. 21, No 8. P. 841–850. <https://doi.org/10.2108/zsj.21.841>.
15. *Ohashi A., Saito N., Kashimoto R., Furukawa S., Yamamoto S., Satoh A.* Axolotl liver regeneration is accomplished via compensatory congestion mechanisms regulated by ERK signaling after partial hepatectomy // *Dev. Dyn.* 2021. V. 250, No 6. P. 838–851. <https://doi.org/10.1002/dvdy.262>.
16. *Лебедева Е.И.* Роль СК19-позитивных клеток портальных зон при тиоацетамид-индуцированном циррозе печени крыс // *Цитология.* 2021. Т. 63, № 4. С. 379–389. <https://doi.org/10.31857/S0041377121040052>.
17. *Wang B., Zhao L., Fish M., Logan C.Y., Nusse R.* Self-renewing diploid Axin2⁺ cells fuel homeostatic renewal of the liver // *Nature.* 2015. V. 524, No 7564. P. 180–185. <https://doi.org/10.1038/nature14863>.
18. *Lopez-Luque J., Fabregat I.* Revisiting the liver: From development to regeneration – what we ought to know! // *Int. J. Dev. Biol.* 2018. V. 62, No 6–7–8. P. 441–451. <https://doi.org/10.1387/ijdb.170264JL>.
19. *Bruno S., Sanchez M.B.H., Chiabotto G., Fonsato V., Navarro-Tableros V., Pasquino C., Tapparo M., Camussi G.* Human liver stem cells: A liver-derived mesenchymal stromal cell-like population with pro-regenerative properties // *Front. Cell Dev. Biol.* 2021. V. 9. Art. 644088. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.644088>.
20. *Miyajima A., Tanaka M., Itoh T.* Stem/progenitor cells in liver development, homeostasis, regeneration, and reprogramming // *Cell Stem Cell.* 2014. V. 14, No 5. P. 561–574. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2014.04.010>.
21. *Duncan A.W., Dorrell C., Grompe M.* Stem cells and liver regeneration // *Gastroenterology.* 2009. V. 137, No 2. P. 466–481. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.05.044>.
22. *Stanger B.Z.* Cellular homeostasis and repair in the mammalian liver // *Annu. Rev. Physiol.* 2015. V. 77. P. 179–200. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021113-170255>.
23. *Szücs A., Paku S., Sebestyén E., Nagy P., Dezsó K.* Postnatal, ontogenic liver growth accomplished by biliary/oval cell proliferation and differentiation // *PLoS One.* 2020. V. 15, No 5. Art. e0233736. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0233736>.
24. *Скурихин Е.Г., Жукова М.А., Пан Э.С., Ермакова Н.Н., Першина О.В., Пахомова А.В., Путрова О.Д., Сандрикина Л.А., Крупин В.А., Козай Л.В., Реброва Т.Ю., Афанасьев С.А., Дыгай А.М.* Возрастные особенности реакции печени и стволовых клеток при моделировании цирроза печени // *Клеточные технологии в биологии и медицине.* 2021. № 1. С. 24–30. <https://doi.org/10.47056/1814-3490-2021-1-24-30>.
25. *Michalopoulos G.K., Khan Z.* Liver stem cells: Experimental findings and implications for human liver disease // *Gastroenterology.* 2015. V. 149, No 4. P. 876–882. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.08.004>.

26. *DeLeve L.D., Maretti-Mira A.C.* Liver sinusoidal endothelial cell: An update // *Semin. Liver Dis.* 2017. V. 37, No 4. P. 377–387. <https://doi.org/10.1055/s-0037-1617455>.
27. *Papp V., Rokusz A., Dezso K., Bugyik E., Szabo V., Pavai Z., Paku S., Nagy P.* Expansion of hepatic stem cell compartment boosts liver regeneration // *Stem Cells Dev.* 2014. V. 23, No 1. P. 56–65. <https://doi.org/10.1089/scd.2013.0202>.
28. *Kowalik M.A., Sulas P., Ledda-Columbano G.M., Giordano S., Columbano A., Perra A.* Cytokeratin-19 positivity is acquired along cancer progression and does not predict cell origin in rat hepatocarcinogenesis // *Oncotarget.* 2015. V. 6, No 36. P. 38749–38763. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.5501>.
29. *Yanger K., Knigin D., Zong Y., Maggs L., Gu G., Akiyama H., Pikarsky E., Stanger B.Z.* Adult hepatocytes are generated by self-duplication rather than stem cell differentiation // *Cell Stem Cell.* 2014. V. 15, No 3. P. 340–349. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2014.06.003>.
30. *Raven A., Lu W.-Y., Man T.Y., Ferreira-Gonzalez S., O'Duibhir E., Dwyer B.J., Thomson J.P., Meehan R.R., Bogorad R., Koteliansky V., Kotelevtsev Y., Ffrench-Constant C., Boulter L., Forbes S.J.* Cholangiocytes act as facultative liver stem cells during impaired hepatocyte regeneration // *Nature.* 2017. V. 547, No 7663. P. 350–354. <https://doi.org/10.1038/nature23015>.
31. *Tarlow B.D., Pelz C., Naugler W.E., Wakefield L., Wilson E.M., Finegold M.J., Grompe M.* Bipotential adult liver progenitors are derived from chronically injured mature hepatocytes // *Cell Stem Cell.* 2014. V. 15, No 5. P. 605–618. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2014.09.008>.
32. *Russell J.O., Lu W.-Y., Okabe H., Abrams M., Oertel M., Poddar M., Singh S., Forbes S.J., Monga S.P.* Hepatocyte-specific β -catenin deletion during severe liver injury provokes cholangiocytes to differentiate into hepatocytes // *Hepatology.* 2019. V. 69, No 2. P. 742–759. <https://doi.org/10.1002/hep.30270>.
33. *Manco R., Clerbaux L.-A., Verhulst S., Nader M.B., Sempoux C., Ambroise J., Bearzatto B., Gala J.L., Horsmans Y., van Grunsven L., Desdouets C., Leclercq I.* Reactive cholangiocytes differentiate into proliferative hepatocytes with efficient DNA repair in mice with chronic liver injury // *Hepatology.* 2019. V. 70, No 6. P. 1180–1191. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2019.02.003>.
34. *So J., Kim M., Lee S.-H., Ko S., Lee D.A., Park H., Azuma M., Parsons M.J., Prober D., Shin D.* Attenuating the epidermal growth factor receptor–extracellular signal-regulated kinase–sex-determining region Y-box 9 axis promotes liver progenitor cell-mediated liver regeneration in Zebrafish // *Hepatology.* 2020. V. 73, No 4. P. 1494–1508. <https://doi.org/10.1002/hep.31437>.
35. *Swiderska-Syn M., Syn W.K., Xie G., Krüger L., Machado M.V., Karaca G., Michelotti G.A., Choi S.S., Premont R.T., Diehl A.M.* Myofibroblastic cells function as progenitors to regenerate murine livers after partial hepatectomy // *Gut.* 2014. V. 63, No 8. P. 1333–1344. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2013-305962>.
36. *Kordes C., Sawitzka I., Götze S., Herebian D., Häussinger D.* Hepatic stellate cells contribute to progenitor cells and liver regeneration // *J. Clin. Invest.* 2014. V. 124, No 12. P. 5503–5515. <https://doi.org/10.1172/JCI74119>.
37. *Mederacke I., Hsu C.C., Troeger J.S., Huebener P., Mu X., Dapito D.H., Pradere J.-P., Schwabe R.F.* Fate tracing reveals hepatic stellate cells as dominant contributors to liver fibrosis independent of its aetiology // *Nat. Commun.* 2013. V. 4, No 1. Art. 2823. <https://doi.org/10.1038/ncomms3823>.
38. *Ma Z., Li F., Chen L., Gu T., Zhang Q., Qu Y., Xu M., Cai X., Lu L.* Autophagy promotes hepatic differentiation of hepatic progenitor cells by regulating the Wnt/ β -catenin signaling pathway // *J. Mol. Hist.* 2019. V. 50, No 1. P. 75–90. <https://doi.org/10.1007/s10735-018-9808-x>.
39. *Durnez A., Verslype C., Nevens F., Fevery J., Aerts R., Pirenne J., Lesaffre E., Libbrecht L., Desmet V., Roskams T.* The clinicopathological and prognostic

- relevance of cytokeratin 7 and 19 expression in hepatocellular carcinoma. A possible progenitor cell origin // *Histopathology*. 2006. V. 49, No 2. P. 138–151. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.2006.02468.x>.
40. *Kholodenko I.V., Kurbatov L.K., Kholodenko R.V., Manukyan G.V., Yarygin K.N.* Mesenchymal stem cells in the adult human liver: Hype or hope? // *Cells*. 2019. V. 8, No 10. Art. 1127. <https://doi.org/10.3390/cells8101127>.
 41. *Furuyama K., Kawaguchi Y., Akiyama H., Horiguchi M., Kodama S., Kuhara T., Hosokawa S., Elbahrawy A., Soeda T., Koizumi M., Masui T., Kawaguchi M., Takaori K., Doi R., Nishi E., Kakinoki R., Deng J.M., Behringer R.R., Nakamura T., Uemoto S.* Continuous cell supply from a Sox9-expressing progenitor zone in adult liver, exocrine pancreas and intestine // *Nat. Genet.* 2011. V. 43, No 1. P. 34–41. <https://doi.org/10.1038/ng.722>.
 42. *Cardinale V., Wang Y., Carpino G., Cui C.-B., Gatto M., Rossi M., Berloco P.B., Cantafora A., Wauthier E., Furth M.E., Inverardi L., Dominguez-Bendala J., Ricordi C., Gerber D., Gaudio E., Alvaro D., Reid L.* Multipotent stem/progenitor cells in human biliary tree give rise to hepatocytes, cholangiocytes, and pancreatic islets // *Hepatology*. 2011. V. 54, No 6. P. 2159–2172. <https://doi.org/10.1002/hep.24590>.
 43. *Dorrell C., Erker L., Schug J., Kopp J.L., Canaday P.S., Fox A.J., Smirnova O., Duncan A.W., Finegold M.J., Sander M., Kaestner K.H., Grompe M.* Prospective isolation of a bipotential clonogenic liver progenitor cell in adult mice // *Genes Dev.* 2011. V. 25, No 11. P. 1193–1203. <https://doi.org/10.1101/gad.2029411>.
 44. *Li J., Xin J., Zhang L., Wu J., Jiang L., Zhou Q., Li J., Guo J., Cao H., Li L.* Human hepatic progenitor cells express hematopoietic cell markers CD45 and CD109 // *Int. J. Med. Sci.* 2014. V. 11, No 1. P. 65–79. <https://doi.org/10.7150/ijms.7426>.
 45. *Мавликеев М.О., Архипова С.С., Чернова О.Н., Тумова А.А., Певнев Г.О., Шафигуллина А.К., Киясов А.П.* Краткий курс гистологической техники: учебно-методическое пособие. Казань: Изд-во Казан. ун-та, 2020. 107 с.
 46. *Itgen M.W., Natalie G.R., Siegel D.S., Sessions S.K., Mueller R.L.* Genome size drives morphological evolution in organ-specific ways // *Evolution*. 2022. V. 76, No 7. P. 1453–1468. <https://doi.org/10.1111/evo.14519>.
 47. *Thophon S., Kruatrachue M., Upatham E.S., Pokethitiyook P., Sahaphong S., Jaritkhuam S.* Histopathological alterations of white seabass, *Lates calcarifer*, in acute and subchronic cadmium exposure // *Environ. Pollut.* 2003. V. 121, No 3. P. 307–320. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(02\)00270-1](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(02)00270-1).
 48. *Odokuma E.I., Omokaro E.I.* Comparative histologic anatomy of vertebrate liver // *Ann. Bioanthropol.* 2015. V. 3, No 1. P. 1–5. <https://doi.org/10.4103/2315-7992.160728>.
 49. *Hermaniuk A., Rybacki M., Taylor J.R.E.* Metabolic rate of diploid and triploid edible frog *Pelophylax esculentus* correlates inversely with cell size in tadpoles but not in frogs // *Physiol. Biochem. Zool.* 2017. V. 90, No 2. P. 230–239. <https://doi.org/10.1086/689408>.
 50. *Hermes-Lima M., Zenteno-Savin T.* Animal response to drastic changes in oxygen availability and physiological oxidative stress // *Comp. Biochem. Physiol., Part C: Toxicol. Pharmacol.* 2002. V. 133, No 4. P. 537–556. [https://doi.org/10.1016/S1532-0456\(02\)00080-7](https://doi.org/10.1016/S1532-0456(02)00080-7).
 51. *Jackson D.C.* Acid-base balance during hypoxic hypometabolism: Selected vertebrate strategies // *Respir. Physiol. Neurobiol.* 2004. V. 141, No 3. P. 273–283. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2004.01.009>.
 52. *Антонова Е.И.* Реактивность и пластичность тканевых компонентов печени в сравнительном ряду позвоночных в норме и после гипертермии: дис. ... докт. биол. наук. Астрахань, 2009. 219 с.
 53. *D'Ario M., Tavares R., Schiessl K., Desvoves B., Gutierrez C., Howard M., Sablowski R.* Cell size controlled in plants using DNA content as an internal scale // *Science*. 2021. V. 372, No 6547. P. 1176–1181. <https://doi.org/10.1126/science.abb4348>.

54. *Womack M.C., Metz M.J., Hoke K.L.* Larger genomes linked to slower development and loss of late-developing traits // *Am. Nat.* 2019. V. 194, No 6. P. 854–864. <https://doi.org/10.1086/705897>.
55. *Decena-Segarra L.P., Bizjak-Mali L., Kladnik A., Sessions S.K., Rovito S.M.* Miniaturization, genome size, and biological size in a diverse clade of salamanders // *Am. Nat.* 2020. V. 196, No 5. P. 634–648. <https://doi.org/10.1086/711019>.
56. *Johnson B.B., Searle J.B., Sparks J.P.* Genome size influences adaptive plasticity of water loss, but not metabolic rate, in lungless salamanders // *J. Exp. Biol.* 2021. V. 224, No 8. Art. jeb242196. <https://doi.org/10.1242/jeb.242196>.
57. *Kim W., Jho E.-H.* The history and regulatory mechanism of the Hippo pathway // *BMB Rep.* 2018. V. 51, No 3. P. 106–118. <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2018.51.3.022>.
58. *Vasudeva N., Mishra S.* (Eds.) *Inderbir Singh's Textbook of Human Histology (With Colour Atlas and Practical Guide)*. New Delhi: Jaypee Brother's Med. Publ., 2014. 453 p.
59. *Saad A.H., Aziz A.A., Yehia I., El-Ghareeb A.W., Ismail H.* Programmed cell death in the liver of different species of anuran amphibians during metamorphosis // *Aust. J. Basic Appl. Sci.* 2009. V. 3, No 4. P. 4644–4655.
60. *Delgado-Coello B.* Liver regeneration observed across the different classes of vertebrates from an evolutionary perspective // *Heliyon.* 2021. V. 7, No 3. Art. e06449. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06449>.
61. *Nogawa-Kosaka N., Sugai T., Nagasawa K., Tanizaki Y., Meguro M., Aizawa Y., Maekawa S., Adachi M., Kuroki R., Kato T.* Identification of erythroid progenitors induced by erythropoietic activity in *Xenopus laevis* // *J. Exp. Biol.* 2011. V. 214, No 6. P. 921–927. <https://doi.org/10.1242/jeb.050286>.
62. *Michalopoulos G.K., Bhushan B.* Liver regeneration: Biological and pathological mechanisms and implications // *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2021. V. 18, No 1. P. 40–55. <https://doi.org/10.1038/s41575-020-0342-4>.
63. *Crawshaw G.J., Weinkle T.K.* Clinical and pathological aspects of the amphibian liver // *Semin. Avian Exot. Pet Med.* 2000. V. 9, No 3. P. 165–173. <https://doi.org/10.1053/ax.2000.7133>.
64. *Loumbourdis N.S., Vogiatzis A.K.* Impact of cadmium on liver pigmentary system of the frog *Rana ridibunda* // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2002. V. 53, No 1. P. 52–58. <https://doi.org/10.1006/eesa.2002.2153>.
65. *Stosik M.P., Tokarz-Deptula B., Deptula W.* Melanomacrophages and melanomacrophage centres in *Osteichthyes* // *Cent. Eur. J. Immunol.* 2019. V. 44, No 2. P. 201–205. <https://doi.org/10.5114/ceji.2019.87072>.
66. *Junqueira L.C., Carneiro J.* *Basic Histology: Text and Atlas*. 10th ed. N.Y., NY: McGraw-Hill, 2003. 515 p.
67. *Li N., Hua J.* Immune cells in liver regeneration // *Oncotarget.* 2017. V. 8, No 2. P. 3628–3639. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.12275>.
68. *Sasai Y.* Cytosystems dynamics in self-organization of tissue architecture // *Nature.* 2013. V. 493, No 7432. P. 318–326. <https://doi.org/10.1038/nature11859>.
69. *Maroudas-Sacks Y., Keren K.* Mechanical patterning in animal morphogenesis // *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 2021. V. 37. P. 469–493. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-120319-030931>.
70. *Michalopoulos G.K.* Principles of liver regeneration and growth homeostasis // *Compr. Physiol.* 2013. V. 3, No 1. P. 485–513. <https://doi.org/10.1002/cphy.c120014>.
71. *Miyaoka Y., Ebato K., Kato H., Arakawa S., Shimizu S., Miyajima A.* Hypertrophy and unconventional cell division of hepatocytes underlie liver regeneration // *Curr. Biol.* 2012. V. 22, No 13. P. 1166–1175. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.05.016>.

72. *Ishikawa J., Takeo M., Iwadate A., Koya J., Kihira M., Oshima M., Suzuki Y., Taniguchi K., Kobayashi A., Tsuji T.* Mechanical homeostasis of liver sinusoid is involved in the initiation and termination of liver regeneration // *Commun. Biol.* 2021. V. 4, No 1. Art. 409. <https://doi.org/10.1038/s42003-021-01936-2>.
73. *He Y.-F., Liu Y.-K., Lu H.-J., Chen J., Yang P.-Y.* Comparative proteomic analysis of primary mouse liver c-Kit⁺(CD45/TER119)⁻ stem/progenitor cells // *J. Cell. Biochem.* 2007. V. 102, No 4. P. 936–946. <https://doi.org/10.1002/jcb.21271>.
74. *Limaye P.B., Bowen W.C., Orr A., Apte U.M., Michalopoulos G.K.* Expression of hepatocytic- and biliary-specific transcription factors in regenerating bile ducts during hepatocyte-to-biliary epithelial cell transdifferentiation // *Comp. Hepatol.* 2010. V. 9, No 1. Art. 9. <https://doi.org/10.1186/1476-5926-9-9>.
75. *Mujyambere B., Jayaraj R., Suja S.* Cytokeratin 19 (CK19) as a marker for epithelial differentiation and malignant transformation: Its clinical relevance in diagnosis, prognosis and treatment response monitoring // *IRE J.* 2018. V. 2, No 3. P. 51–61.
76. *Li B., Dorrell C., Canaday P.S., Pelz C., Haft A., Finegold M., Grompe M.* Adult mouse liver contains two distinct populations of cholangiocytes // *Stem Cell Rep.* 2017. V. 9, No 2. P. 478–489. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2017.06.003>.
77. *Isse K., Lesniak A., Grama K., Maier J., Specht S., Castillo-Rama M., Lunz J., Roysam B., Michalopoulos G., Demetris A.J.* Preexisting epithelial diversity in normal human livers: A tissue-tethered cytometric analysis in portal/periportal epithelial cells // *Hepatology.* 2013. V. 57, No 4. P. 1632–1643. <https://doi.org/10.1002/hep.26131>.
78. *Carpentier R., Suñer R.E., van Hul N., Kopp J.L., Beaudry J.-B., Cordi S., Antoniou A., Raynaud P., Lepreux S., Jacquemin P., Leclercq I.A., Sander M., Lemaigre F.P.* Embryonic ductal plate cells give rise to cholangiocytes, periportal hepatocytes, and adult liver progenitor cells // *Gastroenterology.* 2011. V. 141, No 4. P. 1432–1438. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.06.049>.
79. *Font-Burgada J., Shalapour S., Ramaswamy S., Hsueh B., Rossell D., Umemura A., Taniguchi K., Nakagawa H., Valasek M.A., Ye L., Kopp J.L., Sander M., Carter H., Deisseroth K., Verma I.M., Karin M.* Hybrid periportal hepatocytes regenerate the injured liver without giving rise to cancer // *Cell.* 2015. V. 162, No 4. P. 766–779. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.07.026>.
80. *Lu W.-Y., Bird T.G., Boulter L., Tsuchiya A., Cole A.M., Hay T., Guest R.V., Wojtacha D., Man T.Y., Mackinnon A., Ridgway R.A., Kendall T., Williams M.J., Jamieson T., Raven A., Hay D.C., Iredale J.P., Clarke A.R., Sansom O.J., Forbes S.J.* Hepatic progenitor cells of biliary origin with liver repopulation capacity // *Nat. Cell Biol.* 2015. V. 17, No 8. P. 971–983. <https://doi.org/10.1038/ncb3203>.
81. *Deng X., Zhang X., Li W., Feng R.-X., Li L., Yi G.-R., Zhang X.-N., Yin C., Yu H.-Y., Zhang J.-P., Lu B., Hui L., Xie W.-F.* Chronic liver injury induces conversion of biliary epithelial cells into hepatocytes // *Cell Stem Cell.* 2018. V. 23, No 1. P. 114–122. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2018.05.022>.
82. *Hattoum A., Rubin E., Orr A., Michalopoulos G.K.* Expression of hepatocyte epidermal growth factor receptor, FAS and glypican 3 in EpCAM-positive regenerative clusters of hepatocytes, cholangiocytes, and progenitor cells in human liver failure // *Hum. Pathol.* 2013. V. 44, No 5. P. 743–749. <https://doi.org/10.1016/j.humphath.2012.07.018>.
83. *Limaye P.B., Bowen W.C., Orr A.V., Luo J., Tseng G.C., Michalopoulos G.K.* Mechanisms of hepatocyte growth factor-mediated and epidermal growth factor-mediated signaling in transdifferentiation of rat hepatocytes to biliary epithelium // *Hepatology.* 2008. V. 47, No 5. P. 1702–1713. <https://doi.org/10.1002/hep.22221>.
84. *Junge N., Sharma A.D., Ott M.* About cytokeratin 19 and the drivers of liver regeneration // *J. Hepatol.* 2018. V. 68, No 1. P. 5–7. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.10.003>.

85. *Pepe-Mooney B.J., Dill M.T., Alemany A., Ordovas-Montanes J., Matsushita Y., Rao A., Sen A., Miyazaki M., Anakk S., Dawson P.A., Ono N., Shalek A.K., van Oudenaarden A., Camargo F.D.* Single-cell analysis of the liver epithelium reveals dynamic heterogeneity and an essential role for YAP in homeostasis and regeneration // *Cell Stem Cell*. 2019. V. 25, No 1. P. 23–38. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2019.04.004>.
86. *Aizarani N., Saviano A., Sagar, Mailly L., Durand S., Herman J.S., Pessaux P., Baumert T.F., Grün D.* A human liver cell atlas reveals heterogeneity and epithelial progenitors // *Nature*. 2019. V. 572, No 7768. P. 199–204. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1373-2>.
87. *Stueck A.E., Wanless I.R.* Hepatocyte buds derived from progenitor cells repopulate regions of parenchymal extinction in human cirrhosis // *Hepatology*. 2015. V. 61, No 5. P. 1696–1707. <https://doi.org/10.1002/hep.27706>.
88. *Schaub J.R., Huppert K.A., Kurial S.N.T., Hsu B.Y., Cast A.E., Donnelly B., Karns R.A., Chen F., Rezvani M., Luu H.Y., Mattis A.N., Rougemont A.-L., Rosenthal P., Huppert S.S., Willenbring H.* De novo formation of the biliary system by TGFβ-mediated hepatocyte transdifferentiation // *Nature*. 2018. V. 557, No 7704. P. 247–251. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0075-5>.
89. *Spada M., Porta F., Righi D., Gazzera C., Tandoi F., Ferrero I., Fagioli F., Sanchez M.B.H., Calvo P.L., Biamino E., Bruno S., Gunetti M., Contursi C., Lauritano C., Conio A., Amoroso A., Salizzoni M., Silengo L., Camussi G., Romagnoli R.* Intrahepatic administration of human liver stem cells in infants with inherited neonatal-onset hyperammonemia: A Phase I study // *Stem Cell Rev. Rep.* 2020. V. 16, No 1. P. 186–197. <https://doi.org/10.1007/s12015-019-09925-z>.
90. *Crosby H.A., Kelly D.A., Strain A.J.* Human hepatic stem-like cells isolated using *c-kit* or CD34 can differentiate into biliary epithelium // *Gastroenterology*. 2001. V. 120, No 2. P. 534–544. <https://doi.org/10.1053/gast.2001.21175>.

Поступила в редакцию 23.08.2023

Принята к публикации 15.09.2023

Антонова Елена Ивановна, доктор биологических наук, профессор, директор научно-исследовательского центра фундаментальных и прикладных проблем биоэкологии и биотехнологии

Ульяновский государственный педагогический университет им. И.Н. Ульянова
пл. Ленина, д. 4/5, г. Ульяновск, 432071, Россия
E-mail: antonov_67@mail.ru

Омарова Дина Ирмековна, преподаватель Университетского колледжа

Омский государственный педагогический университет
ул. Набережная Тухачевского, д. 14, г. Омск, 644099, Россия
E-mail: din-dinochka@mail.ru

Фирсова Наталья Викторовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий научно-исследовательского центра фундаментальных и прикладных проблем биоэкологии и биотехнологии

Ульяновский государственный педагогический университет им. И.Н. Ульянова
пл. Ленина, д. 4/5, г. Ульяновск, 432071, Россия
E-mail: n-firsova@mail.ru

Красникова Ксения Алексеевна, лаборант-исследователь лаборатории морфологии научно-исследовательского центра фундаментальных и прикладных проблем биоэкологии и биотехнологии

Ульяновский государственный педагогический университет им. И.Н. Ульянова
пл. Ленина, д. 4/5, г. Ульяновск, 432071, Россия
E-mail: krasnikovaksenia@yandex.ru

ORIGINAL ARTICLE

doi: 10.26907/2542-064X.2024.1.38-65

The Role of Liver Progenitor Cells in Postembryonic Development of *Rana terrestris* under Normal Physiological ConditionsE.I. Antonova^{a*}, D.I. Omarova^{b**}, N.V. Firsova^{a***}, K.A. Krasnikova^{a****}^aResearch Center for Fundamental and Applied Problems of Bioecology and Biotechnology,
Ulyanovsk State Pedagogical University, Ulyanovsk, 432071 Russia^bOmsk State Pedagogical University, Omsk, 644099 RussiaE-mail: *antonov_67@mail.ru, **din-dinochka@mail.ru, ***n-firsova@mail.ru,
****krasnikovaksenia@yandex.ru

Received August 23, 2023; Accepted September 15, 2023

Abstract

The liver plays an essential role in the metabolism of animals, acting as a central hub for metabolic reactions. It serves as a “peripheral integrator” and balances the body’s energy needs. Its regenerative capacity is remarkably high and is maintained by the proliferation of hepatocytes, as well as hematopoietic and regional liver progenitor cells (LPC). This study investigated LPC-driven liver regeneration during postembryonic development in *Rana terrestris* under normal physiological conditions. The analysis of intrahepatic and hematopoietic markers by immunohistochemistry and flow cytometry revealed that progenitor cells with the immunophenotypes of CK19⁺ (intrahepatic progenitor cells) CD34⁺CD45⁺ (hematopoietic progenitor cell population), and CD34⁺CD45⁻ (hemangioblast population) equally promote liver regeneration during the first year of postembryonic development. However, in the second and third years of postembryonic development, liver regeneration was found to be primarily associated with CK19⁺-positive cells, with a smaller contribution from CD34⁺CD45⁻ cells. The results obtained were largely determined by the habitat of the amphibians, thermoregulation, and the completion of morphogenetic processes in the third year of postembryonic development. It is also noteworthy that the liver of the examined specimens remained the major hematopoietic organ throughout all observed stages of postembryonic development.

Keywords: liver, stem potential, hematopoietic progenitor cells, regional progenitor cells, regeneration, amphibians, postembryonic development, immunophenotyping, immunohistochemistry

Institutional Review Board Statement. The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki (2000) for the humane treatment of research animals, the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (ETS N 123), and the Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council on the protection of animals used for scientific purposes.

Conflicts of Interest. The authors declare no conflicts of interest.

Figure Captions

- Fig. 1. Histotopography of the liver in *Rana terrestris*. Yearlings. Hematoxylin-eosin staining. Melanomacrophage centers (a) and melanomacrophage centers in the portal field (b). Magnification 200×.
- Fig. 2. Histotopography of the liver in *Rana terrestris*. Two-year-old specimens. Hematoxylin-eosin staining. Melanomacrophage centers in the area of the central vein (a), isolated bile duct with hematopoietic cells (b). Magnification 200×.
- Fig. 3. Histotopography of the liver in *Rana terrestris*. Two-year-old specimens. Hematoxylin-eosin staining. Portal field with hematopoietic cells, (a and b), subcapsular area with hematopoietic cells (c). Magnification 200×.

- Fig. 4. Histotopography of the liver in *Rana terrestris*. Three-year-old specimens. Hematoxylin-eosin staining. Melanomacrophage centers and a plethoric central vein with erythrocytes in the lumen. Magnification 200×.
- Fig. 5. Dynamics in the number of marker cells of hematopoietic stem cells and regional progenitor cells with the immunophenotypes of CD34⁺CD45⁺, CD34⁺CD45⁻, and CK19⁺ during the first (a), second (b), and third (c) year of postembryonic development in the liver of *Rana terrestris* according to the results of flow cytometry.
- Fig. 6. Correlation between CD34⁺CD45⁺, CD34⁺CD45⁻, and CK19⁺ cells in the liver of *Rana terrestris* at different stages of postembryonic development. r – rank correlation coefficient. The data were considered statistically significant at * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$.
- Fig. 7. Liver of *Rana terrestris*. CD34⁺-cell staining: a–d – yearlings (areas of hematopoietic islets (a–c) and central vein (d)); e – two-year-old specimens; f – three-year-old specimens, magnification 200×; g – three-year-old specimens, CK19⁺-cell staining in the area of central vein, magnification 100×.

References

- Gernhöfer M., Pawert M., Schramm M., Müller E., Triebkorn R. Ultrastructural biomarkers as tools to characterize the health status of fish in contaminated streams. *J. Aquat. Ecosyst. Stress Recovery*, 2001, vol. 8, nos. 3–4, pp. 241–260. <https://doi.org/10.1023/A:1012958804442>.
- Young B., Woodford P., O'Dowd G. *Wheater's Functional Histology: A Text and Colour Atlas*. 6th ed. London, Churchill Livingstone, 2013. 464 p.
- Akulenko N.M., Dziubenko N.V., Marushchak O.Yu., Nekrasova O.D., Oskyrko O.S. Histological changes in common toad, *Bufo bufo* (Anura, Bufonidae), liver tissue under conditions of anthropogenically transformed ecosystems. *Vestn. Zool.*, 2019, vol. 53, no. 6, pp. 501–506. <https://doi.org/10.2478/vzoo-2019-0045>.
- Gardner J.D., Laurin M., Organ C.L. The relationship between genome size and metabolic rate in extant vertebrates. *Phil. Trans. R. Soc., B*, 2020, vol. 375, no. 1793, art. 20190146. <https://doi.org/10.1098/rstb.2019.0146>.
- So J., Kim A., Lee S.-H., Shin D. Liver progenitor cell-driven liver regeneration. *Exp. Mol. Med.*, 2020, vol. 52, no. 8, pp. 1230–1238. <https://doi.org/10.1038/s12276-020-0483-0>.
- Leão T., Siqueira M., Marcondes S., Franco-Belussi L., De Oliveira C., Fernandes C.E. Comparative liver morphology associated with the hepatosomatic index in five Neotropical anuran species. *Anat. Rec.*, 2021, vol. 304, no. 4, pp. 860–871. <https://doi.org/10.1002/ar.24540>.
- Dagli M.L.Z., Chaible L.M., Steiger K. Liver and pancreas. In: Sundberg J.P., Vogel P., Ward J.M. (Eds.). *Pathology of Genetically Engineered and Other Mutant Mice*. Ch. 15. Hoboken, NJ, Wiley-Blackwell, 2021, pp. 307–335. <https://doi.org/10.1002/9781119624608.ch15>.
- Moore M.A.S. Commentary: The role of cell migration in the ontogeny of the lymphoid system. *Stem Cells Dev.*, 2004, vol. 13, no. 1, pp. 1–21. <https://doi.org/10.1089/154732804773099218>.
- Sayed A.E.-D.H., Elballouz A.I., Wassif E.T. Histological and histochemical studies on the early developmental stages of the Egyptian toad *Bufo regularis* Reuss. *Open J. Anim. Sci.*, 2015, vol. 5, no. 2, pp. 142–156. <https://doi.org/10.4236/ojas.2015.52017>.
- Yaparla A., Reeves P., Grayfer L. Myelopoiesis of the amphibian *Xenopus laevis* is segregated to the bone marrow, away from their hematopoietic peripheral liver. *Front. Immunol.*, 2020, vol. 10, art. 3015. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.03015>.
- Nagy P., Thorgeirsson S.S., Grisham J.W. Organizational principles of the liver. In: Arias I.M., Alter H.J., Boyer J.L., Cohen D.E., Shafritz D.A., Thorgeirsson S.S., Wolkoff A.W. (Eds.). *The Liver: Biology and Pathobiology*. Ch. 1. Hoboken, NJ, Wiley-Blackwell, 2020, pp. 1–13. <https://doi.org/10.1002/9781119436812.ch1>.
- Saito M., Kitamura H., Sugiyama K. Liver gangliosides of various animals ranging from fish to mammalian species. *Comp. Biochem. Physiol., Part B: Biochem. Mol. Biol.*, 2001, vol. 129, no. 4, pp. 747–758. [https://doi.org/10.1016/S1096-4959\(01\)00379-7](https://doi.org/10.1016/S1096-4959(01)00379-7).
- Akiyoshi H., Inoue A.M. Comparative histological study of hepatic architecture in the three orders amphibian livers. *Comp. Hepatol.*, 2012, vol. 11, no. 1, art. 2. <https://doi.org/10.1186/1476-5926-11-2>.

14. Akiyoshi H., Inoue A.M. Comparative histological study of teleost livers in relation to phylogeny. *Zool. Sci.*, 2004, vol. 21, no. 8, pp. 841–850. <https://doi.org/10.2108/zsj.21.841>.
15. Ohashi A., Saito N., Kashimoto R., Furukawa S., Yamamoto S., Satoh A. Axolotl liver regeneration is accomplished via compensatory congestion mechanisms regulated by ERK signaling after partial hepatectomy. *Dev. Dyn.*, 2021, vol. 250, no. 6, pp. 838–851. <https://doi.org/10.1002/dvdy.262>.
16. Lebedeva E.I. The role of CK19-positive portal zone cells in thioacetamide-induced rat liver cirrhosis. *Cell Tiss. Biol.*, 2021, vol. 15, no. 6, pp. 568–576. <https://doi.org/10.1134/S1990519X21060067>.
17. Wang B., Zhao L., Fish M., Logan C.Y., Nusse R. Self-renewing diploid Axin2⁺ cells fuel homeostatic renewal of the liver. *Nature*, 2015, vol. 524, no. 7564, pp. 180–185. <https://doi.org/10.1038/nature14863>.
18. Lopez-Luque J., Fabregat I. Revisiting the liver: From development to regeneration – what we ought to know! *Int. J. Dev. Biol.*, 2018, vol. 62, no. 6–7–8, pp. 441–451. <https://doi.org/10.1387/ijdb.170264JL>.
19. Bruno S., Sanchez M.B.H., Chiabotto G., Fonsato V., Navarro-Tableros V., Pasquino C., Tapparo M., Camussi G. Human liver stem cells: A liver-derived mesenchymal stromal cell-like population with pro-regenerative properties. *Front. Cell Dev. Biol.*, 2021, vol. 9, art. 644088. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.644088>.
20. Miyajima A., Tanaka M., Itoh T. Stem/progenitor cells in liver development, homeostasis, regeneration, and reprogramming. *Cell Stem Cell*, 2014, vol. 14, no. 5, pp. 561–574. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2014.04.010>.
21. Duncan A.W., Dorrell C., Grompe M. Stem cells and liver regeneration. *Gastroenterology*, 2009, vol. 137, no. 2, pp. 466–481. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.05.044>.
22. Stanger B.Z. Cellular homeostasis and repair in the mammalian liver. *Annu. Rev. Physiol.*, 2015, vol. 77, pp. 179–200. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021113-170255>.
23. Szücs A., Paku S., Sebestyen E., Nagy P., Dezsó K. Postnatal, ontogenic liver growth accomplished by biliary/oval cell proliferation and differentiation. *PLoS One*, 2020, vol. 15, no. 5, art. e0233736. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0233736>.
24. Skurikhin E.G., Zhukova M.A., Pan E.S., Ermakova N.N., Pershina O.V., Pakhomova A.V., Putrova O.D., Sandrikina L.A., Krupin V.A., Kogai L.V., Rebrova T.Yu., Afanas'ev S.A., Dygai A.M. Age-related features of the response of the liver and stem cells during modeling of liver cirrhosis. *Bull. Exp. Biol. Med.*, 2021, vol. 171, no. 1, pp. 127–133. <https://doi.org/10.1007/s10517-021-05184-6>.
25. Michalopoulos G.K., Khan Z. Liver stem cells: Experimental findings and implications for human liver disease. *Gastroenterology*, 2015, vol. 149, no. 4, pp. 876–882. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.08.004>.
26. DeLeve L.D., Maretta-Mira A.C. Liver sinusoidal endothelial cell: An update. *Semin. Liver Dis.*, 2017, vol. 37, no. 4, pp. 377–387. <https://doi.org/10.1055/s-0037-1617455>.
27. Papp V., Rokusz A., Dezsó K., Bugyik E., Szabó V., Pavai Z., Paku S., Nagy P. Expansion of hepatic stem cell compartment boosts liver regeneration. *Stem Cells Dev.*, 2014, vol. 23, no. 1, pp. 56–65. <https://doi.org/10.1089/scd.2013.0202>.
28. Kowalik M.A., Sulas P., Ledda-Columbano G.M., Giordano S., Columbano A., Perra A. Cytokeratin-19 positivity is acquired along cancer progression and does not predict cell origin in rat hepatocarcinogenesis. *Oncotarget*, 2015, vol. 6, no. 36, pp. 38749–38763. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.5501>.
29. Yanger K., Knigin D., Zong Y., Maggs L., Gu G., Akiyama H., Pikarsky E., Stanger B.Z. Adult hepatocytes are generated by self-duplication rather than stem cell differentiation. *Cell Stem Cell*, 2014, vol. 15, no. 3, pp. 340–349. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2014.06.003>.
30. Raven A., Lu W.-Y., Man T.Y., Ferreira-Gonzalez S., O'Duibhir E., Dwyer B.J., Thomson J.P., Meehan R.R., Bogorad R., Kotliansky V., Kotelevtsev Y., Ffrench-Constant C., Boulter L., Forbes S.J. Cholangiocytes act as facultative liver stem cells during impaired hepatocyte regeneration. *Nature*, 2017, vol. 547, no. 7663, pp. 350–354. <https://doi.org/10.1038/nature23015>.
31. Tarlow B.D., Pelz C., Naugler W.E., Wakefield L., Wilson E.M., Finegold M.J., Grompe M. Bipotential adult liver progenitors are derived from chronically injured mature hepatocytes. *Cell Stem Cell*, 2014, vol. 15, no. 5, pp. 605–618. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2014.09.008>.

32. Russell J.O., Lu W.-Y., Okabe H., Abrams M., Oertel M., Poddar M., Singh S., Forbes S.J., Monga S.P. Hepatocyte-specific β -catenin deletion during severe liver injury provokes cholangiocytes to differentiate into hepatocytes. *Hepatology*, 2019, vol. 69, no. 2, pp. 742–759. <https://doi.org/10.1002/hep.30270>.
33. Manco R., Clerbaux L.-A., Verhulst S., Nader M.B., Sempoux C., Ambroise J., Bearzatto B., Gala J.L., Horsmans Y., van Grunsven L., Desdouets C., Leclercq I. Reactive cholangiocytes differentiate into proliferative hepatocytes with efficient DNA repair in mice with chronic liver injury. *Hepatology*, 2019, vol. 70, no. 6, pp. 1180–1191. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2019.02.003>.
34. So J., Kim M., Lee S.-H., Ko S., Lee D.A., Park H., Azuma M., Parsons M.J., Prober D., Shin D. Attenuating the epidermal growth factor receptor–extracellular signal-regulated kinase–sex-determining region Y-box 9 axis promotes liver progenitor cell-mediated liver regeneration in Zebrafish. *Hepatology*, 2020, vol. 73, no. 4, pp. 1494–1508. <https://doi.org/10.1002/hep.31437>.
35. Swiderska-Syn M., Syn W.K., Xie G., Krüger L., Machado M.V., Karaca G., Michelotti G.A., Choi S.S., Premont R.T., Diehl A.M. Myofibroblastic cells function as progenitors to regenerate murine livers after partial hepatectomy. *Gut*, 2014, vol. 63, no. 8, pp. 1333–1344. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2013-305962>.
36. Kordes C., Sawitzka I., Götze S., Herebian D., Häussinger D. Hepatic stellate cells contribute to progenitor cells and liver regeneration. *J. Clin. Invest.*, 2014, vol. 124, no. 12, pp. 5503–5515. <https://doi.org/10.1172/JCI74119>.
37. Mederacke I., Hsu C.C., Troeger J.S., Huebener P., Mu X., Dapito D.H., Pradere J.-P., Schwabe R.F. Fate tracing reveals hepatic stellate cells as dominant contributors to liver fibrosis independent of its aetiology. *Nat. Commun.*, 2013, vol. 4, no. 1, art. 2823. <https://doi.org/10.1038/ncomms3823>.
38. Ma Z., Li F., Chen L., Gu T., Zhang Q., Qu Y., Xu M., Cai X., Lu L. Autophagy promotes hepatic differentiation of hepatic progenitor cells by regulating the Wnt/ β -catenin signaling pathway. *J. Mol. Hist.*, 2019, vol. 50, no. 1, pp. 75–90. <https://doi.org/10.1007/s10735-018-9808-x>.
39. Durnez A., Verslype C., Nevens F., Fevery J., Aerts R., Pirenne J., Lesaffre E., Libbrecht L., Desmet V., Roskams T. The clinicopathological and prognostic relevance of cytokeratin 7 and 19 expression in hepatocellular carcinoma. A possible progenitor cell origin. *Histopathology*, 2006, vol. 49, no. 2, pp. 138–151. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.2006.02468.x>.
40. Kholodenko I.V., Kurbatov L.K., Kholodenko R.V., Manukyan G.V., Yarygin K.N. Mesenchymal stem cells in the adult human liver: Hype or hope? *Cells*, 2019, vol. 8, no. 10, art. 1127. <https://doi.org/10.3390/cells8101127>.
41. Furuyama K., Kawaguchi Y., Akiyama H., Horiguchi M., Kodama S., Kuhara T., Hosokawa S., Elbahrawy A., Soeda T., Koizumi M., Masui T., Kawaguchi M., Takaori K., Doi R., Nishi E., Kakinoki R., Deng J.M., Behringer R.R., Nakamura T., Uemoto S. Continuous cell supply from a Sox9-expressing progenitor zone in adult liver, exocrine pancreas and intestine. *Nat. Genet.*, 2011, vol. 43, no. 1, pp. 34–41. <https://doi.org/10.1038/ng.722>.
42. Cardinale V., Wang Y., Carpino G., Cui C.-B., Gatto M., Rossi M., Berloco P.B., Cantafora A., Wauthier E., Furth M.E., Inverardi L., Dominguez-Bendala J., Ricordi C., Gerber D., Gaudio E., Alvaro D., Reid L. Multipotent stem/progenitor cells in human biliary tree give rise to hepatocytes, cholangiocytes, and pancreatic islets. *Hepatology*, 2011, vol. 54, no. 6, pp. 2159–2172. <https://doi.org/10.1002/hep.24590>.
43. Dorrell C., Erker L., Schug J., Kopp J.L., Canaday P.S., Fox A.J., Smirnova O., Duncan A.W., Finegold M.J., Sander M., Kaestner K.H., Grompe M. Prospective isolation of a bipotential clonogenic liver progenitor cell in adult mice. *Genes Dev.*, 2011, vol. 25, no. 11, pp. 1193–1203. <https://doi.org/10.1101/gad.2029411>.
44. Li J., Xin J., Zhang L., Wu J., Jiang L., Zhou Q., Li J., Guo J., Cao H., Li L. Human hepatic progenitor cells express hematopoietic cell markers CD45 and CD109. *Int. J. Med. Sci.*, 2014, vol. 11, no. 1, pp. 65–79. <https://doi.org/10.7150/ijms.7426>.
45. Mavlikeev M.O., Arkhipova S.S., Chernova O.N., Titova A.A., Pevnev G.O., Shafigullina A.K., Kiyasov A.P. *Kratkii kurs gistologicheskoi tekhniki: uchebno-metodicheskoe posobie* [A Short Course of Histological Techniques: A Guidance Manual]. Kazan, Izd. Kazan. Univ., 2020. 107 p. (In Russian)

46. Itgen M.W., Natalie G.R., Siegel D.S., Sessions S.K., Mueller R.L. Genome size drives morphological evolution in organ-specific ways. *Evolution*, 2022, vol. 76, no. 7, pp. 1453–1468. <https://doi.org/10.1111/evo.14519>.
47. Thophon S., Kruatrachue M., Upatham E.S., Pokethitiyook P., Sahaphong S., Jaritkhan S. Histopathological alterations of white seabass, *Lates calcarifer*, in acute and subchronic cadmium exposure. *Environ. Pollut.*, 2003, vol. 121, no. 3, pp. 307–320. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(02\)00270-1](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(02)00270-1).
48. Odokuma E.I., Omokaro E.I. Comparative histologic anatomy of vertebrate liver. *Ann. Bioanthropol.*, 2015, vol. 3, no. 1, pp. 1–5. <https://doi.org/10.4103/2315-7992.160728>.
49. Hermaniuk A., Rybacki M., Taylor J.R.E. Metabolic rate of diploid and triploid edible frog *Pelophylax esculentus* correlates inversely with cell size in tadpoles but not in frogs. *Physiol. Biochem. Zool.*, 2017, vol. 90, no. 2, pp. 230–239. <https://doi.org/10.1086/689408>.
50. Hermes-Lima M., Zenteno-Savin T. Animal response to drastic changes in oxygen availability and physiological oxidative stress. *Comp. Biochem. Physiol., Part C: Toxicol. Pharmacol.*, 2002, vol. 133, no. 4, pp. 537–556. [https://doi.org/10.1016/S1532-0456\(02\)00080-7](https://doi.org/10.1016/S1532-0456(02)00080-7).
51. Jackson D.C. Acid-base balance during hypoxic hypometabolism: Selected vertebrate strategies. *Respir. Physiol. Neurobiol.*, 2004, vol. 141, no. 3, pp. 273–283. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2004.01.009>.
52. Antonova E.I. Reactivity and plasticity of liver tissue components in a comparative series of vertebrates before and after hyperthermia. *Doct. Biol. Sci. Diss.* Astrakhan, 2009. 219 p. (In Russian)
53. D’Ario M., Tavares R., Schiessl K., Desvoyes B., Gutierrez C., Howard M., Sablowski R. Cell size controlled in plants using DNA content as an internal scale. *Science*, 2021, vol. 372, no. 6547, pp. 1176–1181. <https://doi.org/10.1126/science.abb4348>.
54. Womack M.C., Metz M.J., Hoke K.L. Larger genomes linked to slower development and loss of late-developing traits. *Am. Nat.*, 2019, vol. 194, no. 6, pp. 854–864. <https://doi.org/10.1086/705897>.
55. Decena-Segarra L.P., Bizjak-Mali L., Kladnik A., Sessions S.K., Rovito S.M. Miniaturization, genome size, and biological size in a diverse clade of salamanders. *Am. Nat.*, 2020, vol. 196, no. 5, pp. 634–648. <https://doi.org/10.1086/711019>.
56. Johnson B.B., Searle J.B., Sparks J.P. Genome size influences adaptive plasticity of water loss, but not metabolic rate, in lungless salamanders. *J. Exp. Biol.*, 2021, vol. 224, no. 8, art. jeb242196. <https://doi.org/10.1242/jeb.242196>.
57. Kim W., Jho E.-H. The history and regulatory mechanism of the Hippo pathway. *BMB Rep.*, 2018, vol. 51, no. 3, pp. 106–118. <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2018.51.3.022>.
58. Vasudeva N., Mishra S. (Eds.) *Inderbir Singh’s Textbook of Human Histology (with Colour Atlas and Practical Guide)*. New Delhi, Jaypee Brother’s Med. Publ., 2014. 453 p.
59. Saad A.H., Aziz A.A., Yehia I., El-Ghareeb A.W., Ismail H. Programmed cell death in the liver of different species of anuran amphibians during metamorphosis. *Aust. J. Basic Appl. Sci.*, 2009, vol. 3, no. 4, pp. 4644–4655.
60. Delgado-Coello B. Liver regeneration observed across the different classes of vertebrates from an evolutionary perspective. *Heliyon*, 2021, vol. 7, no. 3, art. e06449. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06449>.
61. Nogawa-Kosaka N., Sugai T., Nagasawa K., Tanizaki Y., Meguro M., Aizawa Y., Maekawa S., Adachi M., Kuroki R., Kato T. Identification of erythroid progenitors induced by erythropoietic activity in *Xenopus laevis*. *J. Exp. Biol.*, 2011, vol. 214, no. 6, pp. 921–927. <https://doi.org/10.1242/jeb.050286>.
62. Michalopoulos G.K., Bhushan B. Liver regeneration: Biological and pathological mechanisms and implications. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, 2021, vol. 18, no. 1, pp. 40–55. <https://doi.org/10.1038/s41575-020-0342-4>.
63. Crawshaw G.J., Weinkle T.K. Clinical and pathological aspects of the amphibian liver. *Semin. Avian Exot. Pet Med.*, 2000, vol. 9, no. 3, pp. 165–173. <https://doi.org/10.1053/ax.2000.7133>.

64. Loumbourdis N.S., Vogiatzis A.K. Impact of cadmium on liver pigmentary system of the frog *Rana ridibunda*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 2002, vol. 53, no. 1, pp. 52–58. <https://doi.org/10.1006/eesa.2002.2153>.
65. Stosik M.P., Tokarz-Deptula B., Deptula W. Melanomacrophages and melanomacrophage centres in *Osteichthyes*. *Cent. Eur. J. Immunol.*, 2019, vol. 44, no. 2, pp. 201–205. <https://doi.org/10.5114/ceji.2019.87072>.
66. Junqueira L.C., Carneiro J. *Basic Histology: Text and Atlas*. 10th ed. New York, NY, McGraw-Hill, 2003. 515 p.
67. Li N., Hua J. Immune cells in liver regeneration. *Oncotarget*, 2017, vol. 8, no. 2, pp. 3628–3639. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.12275>.
68. Sasai Y. Cytosystems dynamics in self-organization of tissue architecture. *Nature*, 2013, vol. 493, no. 7432, pp. 318–326. <https://doi.org/10.1038/nature11859>.
69. Maroudas-Sacks Y., Keren K. Mechanical patterning in animal morphogenesis. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 2021, vol. 37, pp. 469–493. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-120319-030931>.
70. Michalopoulos G.K. Principles of liver regeneration and growth homeostasis. *Compr. Physiol.*, 2013, vol. 3, no. 1, pp. 485–513. <https://doi.org/10.1002/cphy.c120014>.
71. Miyaoka Y., Ebato K., Kato H., Arakawa S., Shimizu S., Miyajima A. Hypertrophy and unconventional cell division of hepatocytes underlie liver regeneration. *Curr. Biol.*, 2012, vol. 22, no. 13, pp. 1166–1175. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.05.016>.
72. Ishikawa J., Takeo M., Iwadae A., Koya J., Kihira M., Oshima M., Suzuki Y., Taniguchi K., Kobayashi A., Tsuji T. Mechanical homeostasis of liver sinusoid is involved in the initiation and termination of liver regeneration. *Commun. Biol.*, 2021, vol. 4, no. 1, art. 409. <https://doi.org/10.1038/s42003-021-01936-2>.
73. He Y.-F., Liu Y.-K., Lu H.-J., Chen J., Yang P.-Y. Comparative proteomic analysis of primary mouse liver c-Kit⁺(CD45/TER119)⁺ stem/progenitor cells. *J. Cell. Biochem.*, 2007, vol. 102, no. 4, pp. 936–946. <https://doi.org/10.1002/jcb.21271>.
74. Limaye P.B., Bowen W.C., Orr A., Apte U.M., Michalopoulos G.K. Expression of hepatocytic- and biliary-specific transcription factors in regenerating bile ducts during hepatocyte-to-biliary epithelial cell transdifferentiation. *Comp. Hepatol.*, 2010, vol. 9, no. 1, art. 9. <https://doi.org/10.1186/1476-5926-9-9>.
75. Mujyambere B., Jayaraj R., Suja S. Cytokeratin 19 (CK19) as a marker for epithelial differentiation and malignant transformation: Its clinical relevance in diagnosis, prognosis and treatment response monitoring. *IRE J.*, 2018, vol. 2, no. 3, pp. 51–61.
76. Li B., Dorrell C., Canaday P.S., Pelz C., Haft A., Finegold M., Grompe M. Adult mouse liver contains two distinct populations of cholangiocytes. *Stem Cell Rep.*, 2017, vol. 9, no. 2, pp. 478–489. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2017.06.003>.
77. Isse K., Lesniak A., Grama K., Maier J., Specht S., Castillo-Rama M., Lunz J., Roysam B., Michalopoulos G., Demetris A.J. Preexisting epithelial diversity in normal human livers: A tissue-tethered cytometric analysis in portal/periportal epithelial cells. *Hepatology*, 2013, vol. 57, no. 4, pp. 1632–1643. <https://doi.org/10.1002/hep.26131>.
78. Carpentier R., Suñer R.E., van Hul N., Kopp J.L., Beaudry J.-B., Cordi S., Antoniou A., Raynaud P., Lepreux S., Jacquemin P., Leclercq I.A., Sander M., Lemaigre F.P. Embryonic ductal plate cells give rise to cholangiocytes, periportal hepatocytes, and adult liver progenitor cells. *Gastroenterology*, 2011, vol. 141, no. 4, pp. 1432–1438. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.06.049>.
79. Font-Burgada J., Shalpour S., Ramaswamy S., Hsueh B., Rossell D., Umemura A., Taniguchi K., Nakagawa H., Valasek M.A., Ye L., Kopp J.L., Sander M., Carter H., Deisseroth K., Verma I.M., Karin M. Hybrid periportal hepatocytes regenerate the injured liver without giving rise to cancer. *Cell*, 2015, vol. 162, no. 4, pp. 766–779. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.07.026>.
80. Lu W.-Y., Bird T.G., Boulter L., Tsuchiya A., Cole A.M., Hay T., Guest R.V., Wojtacha D., Man T.Y., Mackinnon A., Ridgway R.A., Kendall T., Williams M.J., Jamieson T., Raven A., Hay D.C., Iredale J.P., Clarke A.R., Sansom O.J., Forbes S.J. Hepatic progenitor cells of biliary

- origin with liver repopulation capacity. *Nat. Cell Biol.*, 2015, vol. 17, no. 8, pp. 971–983. <https://doi.org/10.1038/ncb3203>.
81. Deng X., Zhang X., Li W., Feng R.-X., Li L., Yi G.-R., Zhang X.-N., Yin C., Yu H.-Y., Zhang J.-P., Lu B., Hui L., Xie W.-F. Chronic liver injury induces conversion of biliary epithelial cells into hepatocytes. *Cell Stem Cell*, 2018, vol. 23, no. 1, pp. 114–122. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2018.05.022>.
 82. Hattoum A., Rubin E., Orr A., Michalopoulos G.K. Expression of hepatocyte epidermal growth factor receptor, FAS and glypican 3 in EpCAM-positive regenerative clusters of hepatocytes, cholangiocytes, and progenitor cells in human liver failure. *Hum. Pathol.*, 2013, vol. 44, no. 5, pp. 743–749. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2012.07.018>.
 83. Limaye P.B., Bowen W.C., Orr A.V., Luo J., Tseng G.C., Michalopoulos G.K. Mechanisms of hepatocyte growth factor-mediated and epidermal growth factor-mediated signaling in transdifferentiation of rat hepatocytes to biliary epithelium. *Hepatology*, 2008, vol. 47, no. 5, pp. 1702–1713. <https://doi.org/10.1002/hep.22221>.
 84. Junge N., Sharma A.D., Ott M. About cytokeratin 19 and the drivers of liver regeneration. *J. Hepatol.*, 2018, vol. 68, no. 1, pp. 5–7. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.10.003>.
 85. Pepe-Mooney B.J., Dill M.T., Alemany A., Ordovas-Montanes J., Matsushita Y., Rao A., Sen A., Miyazaki M., Anakk S., Dawson P.A., Ono N., Shalek A.K., van Oudenaarden A., Camargo F.D. Single-cell analysis of the liver epithelium reveals dynamic heterogeneity and an essential role for YAP in homeostasis and regeneration. *Cell Stem Cell*, 2019, vol. 25, no. 1, pp. 23–38. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2019.04.004>.
 86. Aizarani N., Saviano A., Sagar, Maily L., Durand S., Herman J.S., Pessaux P., Baumert T.F., Grün D. A human liver cell atlas reveals heterogeneity and epithelial progenitors. *Nature*, 2019, vol. 572, no. 7768, pp. 199–204. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1373-2>.
 87. Stueck A.E., Wanless I.R. Hepatocyte buds derived from progenitor cells repopulate regions of parenchymal extinction in human cirrhosis. *Hepatology*, 2015, vol. 61, no. 5, pp. 1696–1707. <https://doi.org/10.1002/hep.27706>.
 88. Schaub J.R., Huppert K.A., Kurial S.N.T., Hsu B.Y., Cast A.E., Donnelly B., Karns R.A., Chen F., Rezvani M., Luu H.Y., Mattis A.N., Rougemont A.-L., Rosenthal P., Huppert S.S., Willenbring H. De novo formation of the biliary system by TGFβ-mediated hepatocyte transdifferentiation. *Nature*, 2018, vol. 557, no. 7704, pp. 247–251. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0075-5>.
 89. Spada M., Porta F., Righi D., Gazzera C., Tandoi F., Ferrero I., Fagioli F., Sanchez M.B.H., Calvo P.L., Biamino E., Bruno S., Gunetti M., Contursi C., Lauritano C., Conio A., Amoroso A., Salizzoni M., Silengo L., Camussi G., Romagnoli R. Intrahepatic administration of human liver stem cells in infants with inherited neonatal-onset hyperammonemia: A Phase I study. *Stem Cell Rev. Rep.*, 2020, vol. 16, no. 1, pp. 186–197. <https://doi.org/10.1007/s12015-019-09925-z>.
 90. Crosby H.A., Kelly D.A., Strain A.J. Human hepatic stem-like cells isolated using *c-kit* or CD34 can differentiate into biliary epithelium. *Gastroenterology*, 2001, vol. 120, no. 2, pp. 534–544. <https://doi.org/10.1053/gast.2001.21175>.

Для цитирования: Антонова Е.И., Омарова Д.И., Фирсова Н.В., Красникова К.А. Роль клеток-предшественников печени амфибий вида *Rana terrestris* в постэмбриональном развитии в условиях физиологической нормы // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2024. Т. 166, кн. 1. С. 38–65. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.1.38-65>.

For citation: Antonova E.I., Omarova D.I., Firsova N.V., Krasnikova K.A. The role of liver progenitor cells in postembryonic development of *Rana terrestris* under normal physiological conditions. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2024, vol. 166, no. 1, pp. 38–65. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.1.38-65>. (In Russian)

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

УДК 573.6+574.64

doi: 10.26907/2542-064X.2024.1.66-81

КОМБИНИРОВАННОЕ ДЕЙСТВИЕ Mn(II) И РЕЗОРЦИНА НА РЯСКУ

Е.В. Столповская¹, В.О. Суховнина², Г.О. Жданова¹, О.А. Бархатова¹,
А.Д. Стом¹, М.Н. Саксонов¹, А.Б. Купчинский², Т.С. Лозовая³,
М.Ю. Толстой³, С.Н. Филиппова⁴, Д.И. Стом^{1,2,3}

¹Иркутский государственный университет, г. Иркутск, 664003, Россия

²Байкальский музей СО РАН, п. Листвянка, 664520, Россия

³Иркутский национальный исследовательский технический университет,
г. Иркутск, 664074, Россия

⁴Белорусский государственный университет, Минск, 220030, Беларусь

Аннотация

В острых опытах исследовано комбинированное действие Mn(II) и резорцина (0.01 н и 0.2 н) на водное растение *Lemna minor* (ряска). Тест-откликом является нарушение проницаемости тканей, о чем свидетельствует выход электролитов из растения в водную среду после 30 мин контакта ряски с токсикантами. Эксперимент показал, что токсичность эквивалентных смесей резорцина и Mn(II) (с их содержанием 0.2 н) возрастает по сравнению с индивидуальными соединениями. Подобный эффект проявляется как для свежеприготовленных растворов, так и для растворов, выдержанных перед экспериментом в течение 20 ч с момента приготовления. Изменение УФ-вид-спектров поглощения смеси резорцина и Mn(II) при эквивалентном соотношении (0.01 н) компонентов свидетельствует о протекании комплексобразования или иного типа взаимодействия. При соотношении токсикантов в смеси 1:20 (0.01 н – Mn(II) и 0.2 н – резорцин) наблюдается снижение токсического воздействия системы на ряску по сравнению с индивидуальным воздействием этих веществ. Полученные результаты подтверждают необходимость учета взаимодействий в смесях тяжелых металлов и фенольных соединений при оценке качества водных сред.

Ключевые слова: резорцин, *Lemna minor*, Mn(II), электропроводность, проницаемость мембран, биотестирование, токсичность, комбинированное действие.

Введение

Среди неорганических загрязнителей особую опасность представляют ионы тяжелых металлов вследствие их устойчивости и токсичности [1–6]. К числу этих металлов относится и марганец. Окружающая среда характеризуется достаточно высоким содержанием марганца и сопутствующих тяжелых металлов, которые образуются при выветривании и выщелачивании отвальных шлаков, а также во время других процессов, связанных с добычей марганца, его плавкой и т. п. Затем по разным причинам соли марганца могут попадать в водные объекты [7].

С другой стороны, марганец является неотъемлемой частью ряда нескольких ключевых процессов жизнедеятельности растений, таких как фотосинтез, смягчение повреждений от активных форм кислорода и окислительно-восстановительные реакции [8]. Однако избыток марганца оказывает отрицательное воз-

действие на растения, которое проявляется, в частности, в виде хлороза листьев, темных включений и/или симптомов сморщивания, что обычно интерпретируется как стресс. При этом на фитотоксичность марганца могут влиять условия окружающей среды – световой режим, температура, химический состав субстрата, а также присутствие в среде других соединений, в том числе органических. Среди последних по общему объему и многообразию эффектов, оказываемых на представителей биоты, следует выделить фенольные соединения [9–11], способные вступать в различные взаимодействия с металлами, что приводит к изменению их биологических эффектов.

Анализ литературных данных свидетельствует о том, что токсикологические аспекты совместного воздействия рассматриваемых поллютантов остаются малоизученными. Описаны лишь отдельные примеры исследований комбинированных эффектов, наблюдаемых при одновременном присутствии фенольных соединений и тяжелых металлов в водных средах [12, 13]. Эти эффекты важны как для понимания взаимодействия компонентов природных экосистем в условиях их антропогенного загрязнения, так и для оценки качества водных сред и прогнозирования экологических ситуаций, поскольку необходимо учитывать реакции, протекающие в смесях тяжелых металлов и полифенольных соединений, и изменение их токсичности при этом.

В связи с этим целью данной работы является оценка комбинированного токсического действия двухатомного фенола резорцина и $MnSO_4$ на водное растение *Lemna minor*.

1. Объекты и методы исследования

1.1. Тест-объект. Ряску (*L. minor*) отбирали для исследования в небольших водоемах в районе о. Юность (Иркутск, Россия). В лабораторных условиях *L. minor* культивировали в стеклянных сосудах при температуре 20–22 °С и искусственном освещении 650–850 Лк на питательной среде Штейнберга [14].

1.2. Исследуемые токсиканты. Источником ионов Mn(II) служил его сульфат ($MnSO_4 \cdot 5H_2O$) марки х.ч. Резорцин (ч) перед экспериментами очищали путем возгонки под вакуумом.

В токсикометрических опытах использовали свежеприготовленные в дистиллированной воде растворы указанных соединений с концентрациями 0.01 и 0.2 н. Выбор этих значений проводили на основе результатов предварительных экспериментов, в которых было показано, что 0.2 н растворы обладают выраженным ингибирующим действием, а 0.01 н растворы не оказывают токсического воздействия на тест-реакцию. Бинарные смеси получали смешиванием в различных соотношениях поллютантов при этих концентрациях (табл. 1).

Табл. 1

Состав смесей резорцина и Mn(II) для токсикометрических опытов

$H_{\text{резорцин}}$, н	$H_{\text{Mn(II)}}$, н	Соотношение эквивалентных концентраций Mn(II) : резорцин
0.01	0.01	1:1
0.2	0.2	1:1
0.01	0.2	20:1
0.2	0.01	1:20

При регистрации UV-Vis-спектров растворов концентрации исследуемых соединений были несколько ниже (табл. 2).

Табл. 2

Состав смесей резорцина и Mn(II) при регистрации UV-Vis-спектров

$H_{\text{резорцина}}, \text{H}$	$H_{\text{Mn(II)}}, \text{H}$	Соотношение эквивалентных концентраций Mn(II) : резорцин
0.0010	0.0010	1:1
	0.0040	4:1
	0.010	10:1
	0.040	40:1
0.010	0.0010	1:10
	0.0040	1:2.5
	0.010	1:1
	0.040	4:1
0.00050	0.00050	1:1
	0.00025	1:20
	0.010	20:1

1.3. Токсикометрические исследования. В растворы рассматриваемых токсикантов и их смесей вносили навеску *L. minor* из расчета 0.5 г (сырой вес) на 50 мл раствора. Обработка растений в растворах токсикантов (в контроле – в дистиллированной воде) составляла 30 мин (острый опыт). Экспонирование проводили при температуре 20–22 °С в темноте. После этого ряску тщательно и многократно промывали дистиллированной водой. Затем ряску помещали в стакан с 50 мл дистиллированной воды и измеряли электропроводность растворов в течение 90 мин с помощью кондуктометра «Эксперт-002» («Эконикс-эксперт», Россия) с погружным датчиком УЭП-П-С. Результаты сопоставляли с данными, полученными на ряске, выдержанной в дистиллированной воде без добавления токсикантов. Повышение значений выхода электролитов в водных растворах из *L. minor* из-за нарушения барьерных свойств поверхностных структур растений служило критерием оценки токсического действия поллютантов.

Токсикометрические измерения проводили со свежеприготовленными растворами, а также с выдержанными в темноте при 20 °С в течение 20 ч после приготовления.

1.4. Физико-химический анализ. UV-Vis-спектры растворов фенольных соединений, Mn(II) и их смесей регистрировали на спектрофотометре рНотоLab 6600 (WTW, Германия). Измерение рН и окислительно-восстановительного потенциала (ОВП) растворов токсикантов и водной среды, в которую была помещена предварительно обработанная токсикантами ряска, проводили на анализаторе «Эксперт-001-4(0.4)» («Эконикс-эксперт», Россия), оснащенном электродами ЭСК-1 и ЭРП-105 для определения рН раствора и окислительно-восстановительного потенциала соответственно.

1.5. Статистическая обработка данных. Выполняли не менее пяти независимых опытов с тремя параллельными измерениями в каждом. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Excel (Microsoft, США). На графиках представлены значения среднего арифмети-

ческого и стандартное отклонение среднего арифметического (или средняя квадратичная ошибка). Выводы сделаны при вероятности безошибочного прогноза $P \geq 0.95$. Достоверность различия результатов оценивали с помощью критерия Стьюдента.

2. Результаты и их обсуждение

2.1. Нарушение проницаемости клеточных мембран *L. minor*. Воздействие на ряску эквинормальной смеси резорцина и Mn(II) (0.2 н) приводит к более высокому выходу электролитов, чем при индивидуальном воздействии каждого из токсикантов. Так, электропроводность воды, в которую была помещена ряска, обработанная свежеприготовленной 0.2 н смесью резорцина и Mn(II), за 90 мин измерений возросла в 22 раза (с 1.95 до 42.6 мкСм). После индивидуального воздействия на ряску свежеприготовленными растворами каждого из испытуемых соединений электропроводность за аналогичное время увеличивалась по отношению к контролю только в 11.5 раз (с 2.4 ± 0.4 до 27.4 ± 1.6 мкСм после воздействия 0.2 н резорцина и с 2.0 ± 0.1 до 23.3 ± 0.9 мкСм после действия 0.2 н Mn(II)) (рис. 1, а).

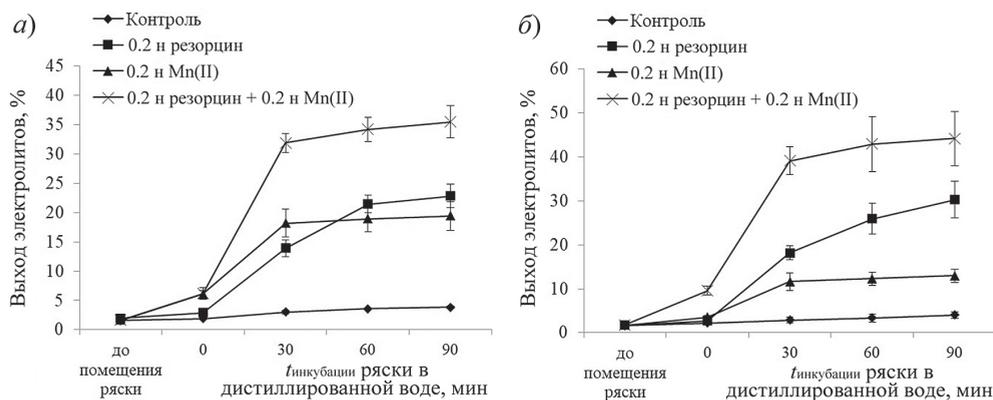


Рис. 1. Изменение электропроводности инкубационных растворов с ряской *L. minor*, предварительно экспонированной в течение 30 мин в 0.2 н растворах Mn(II), резорцина и их смеси: а) свежеприготовленные растворы; б) растворы, выдержанные 20 ч с момента приготовления

Сходная тенденция выявлена и при использовании аналогичных растворов токсикантов, но выдержанных с момента приготовления 20 ч (рис. 1, б). В этом случае эффект системы Mn(II)–резорцин в 1.5 и 3.4 раза выше по сравнению с индивидуальным воздействием резорцина и Mn(II) соответственно. Следует отметить, что выход электролитов после выдерживания растений с резорцином увеличивался в большей степени, чем при воздействии Mn(II) (рис. 1), причем эта тенденция более выражена в опытах с растворами, выдержанными в течение 20 ч с момента приготовления (рис. 1, б).

Добавление 0.01 н раствора Mn(II) к 0.2 н раствору резорцина приводило к снижению негативного воздействия последнего по отношению к ряске. Так, выход электролитов из тканей растения за 90 мин был на 24% ниже, чем при обработке *L. minor* индивидуальным раствором резорцина в указанной концентрации (рис. 2, а).

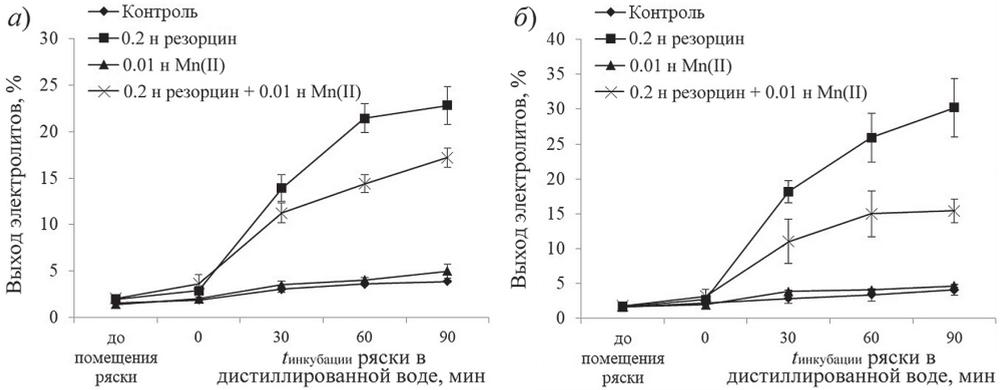


Рис. 2. Изменение электропроводности инкубационных растворов с ряской *L. minor*, предварительно экспонированной в течение 30 мин в растворах 0.01 н Mn(II), 0.2 н резорцина и их смеси: а) свежеприготовленные растворы; б) растворы, выдержанные 20 ч с момента приготовления

Подобный эффект установлен и при использовании растворов токсикантов, выдержанных в течение 20 ч с момента приготовления (рис. 2, б). Более того, в этом случае соответствующее снижение токсического действия смеси Mn(II)–резорцин (на 39, 42 и 49% при продолжительности опыта 30, 60 и 90 мин соответственно) является более выраженным по сравнению с эффектом индивидуально раствора резорцина (рис. 2, б).

Добавление 0.01 н резорцина к 0.2 н Mn(II) не приводит к значительному изменению электропроводности раствора после выдерживания с растениями на всех этапах эксперимента (рис. 3).

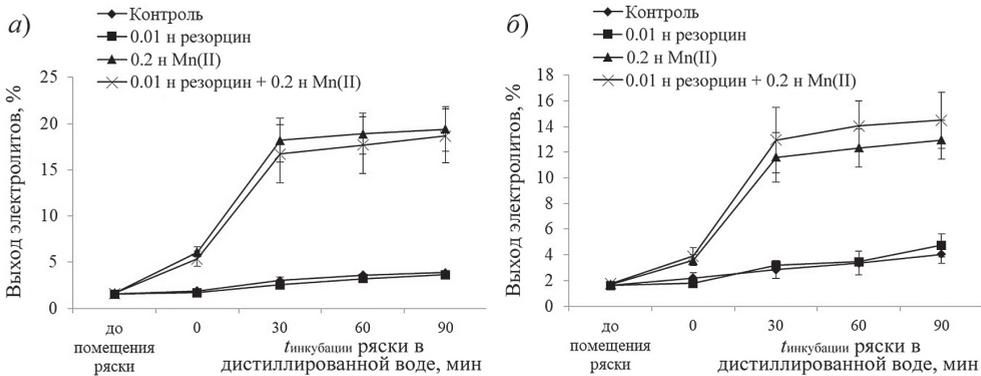


Рис. 3. Изменение электропроводности инкубационных растворов с ряской *L. minor*, предварительно экспонированной в течение 30 мин в растворах 0.2 н Mn(II), 0.01 н резорцина и их смеси: а) свежеприготовленные растворы; б) растворы, выдержанные 20 ч с момента приготовления

Электропроводность инкубационных растворов с ряской *L. minor*, предварительно выдержанной в растворах 0.01 н Mn(II), резорцина и их смеси, практически не различается независимо от времени выдерживания растворов токсикантов перед контактом с ряской. Кроме того, результаты близки к контрольным значениям, полученным для растворов с необработанными токсикантами растением.

2.2. Изменение рН и окислительно-восстановительного потенциала испытуемых растворов после инкубирования в них ряски *L. minor*. Параллельно анализировали изменение рН и окислительно-восстановительного потенциала исследуемых растворов резорцина, Mn(II) и их смесей до и после экспонирования в них растений.

Значения рН индивидуальных растворов резорцина и Mn(II) находятся в области 5.6–6.2. Смешивание компонентов смеси не приводило к значительным изменениям рН. В эквинормальных смесях, как 0.2 н, так и 0.01 н, значения рН незначительно снижались относительно соответствующих значений для растворов Mn(II), но при этом были чуть выше, чем рН растворов резорцина. Так, в смеси 0.2 н растворов резорцина (рН 5.6) и Mn(II) (рН 6.2) устанавливался рН 5.8 и в системе, содержащей 0.01 н растворы резорцина (рН 5.6) и Mn(II) (рН 5.9), также устанавливался рН 5.8. В смеси, содержащей 0.2 н Mn(II) и 0.01 н резорцина, значение рН также принимало усредненное значение 6.0. А добавление 0.01 н раствора Mn(II) (рН 5.9) к 0.2 н раствору резорцина (рН 5.6) снижало рН до уровня рН резорцина. Отсутствие резких изменений рН сразу после приготовления растворов может свидетельствовать в пользу того, что на этом этапе не происходит никаких химических взаимодействий между компонентами смесей. После 30 мин выдерживания с растениями рН растворов 0.2 и 0.01 н резорцина незначительно повышался, но менее чем на единицу.

Описанные тенденции изменения рН характерны и для экспериментов в системах с предварительно выдержанными в течение 20 ч растворами токсикантов.

Вероятно, некоторое снижение рН смесей Mn(II) с резорцином указывает на возможное образование комплекса, подобно тому, как образование комплексов железа с катехолоподобными веществами способствует высвобождению H^+ и, соответственно, некоторому снижению рН [15].

ОВП индивидуальных растворов резорцина и Mn(II) при выбранных концентрациях после выдерживания с растениями повышается более интенсивно, чем в контрольном растворе (растение, выдержанное в дистиллированной воде) (табл. 3). Для растворов резорцина увеличение ОВП составляет 70 мВ, а для растворов Mn(II) – 64 и 78 мВ для 0.01 и 0.2 н растворов соответственно, в то время как ОВП воды (контроль до экспонирования растения) изменяется в присутствии растений на 40 мВ. Возможно, в водных растворах происходит некоторое автоокисление и двухатомных фенолов, и Mn(II). В связи с этим окислительно-восстановительный потенциал растворов сдвигается в сторону больших значений. В смесях Mn(II)–резорцин наблюдается повышение ОВП на 30–53 мВ, что согласуется с таковым в контрольном опыте (40 мВ).

Таким образом, испытуемые растения изменяли ОВП смесей резорцин–Mn(II) в меньшей степени, чем ОВП их индивидуальных растворов. Аналогичная тенденция характерна и для растворов токсикантов, предварительно выдержанных в течение 20 ч с момента приготовления (табл. 3).

Табл. 3

Окислительно-восстановительные потенциалы (ОВП) растворов, содержащих резорцин, Mn(II) и их смеси, до и после экспонирования яски в течение 30 мин

Состав раствора	ОВП растворов до экспонирования яски, мВ		ОВП растворов после экспонирования яски, мВ		ΔE (до и после экспонирования яски), мВ	
	Свежеприготовленные растворы	Растворы, выдержанные 20 ч с момента приготовления	Свежеприготовленные растворы	Растворы, выдержанные 20 ч с момента приготовления	Свежеприготовленные растворы	Растворы, выдержанные 20 ч с момента приготовления
Контроль	172 ± 2.2	205 ± 4.6	217 ± 2.3	314 ± 7.3	45	109
Резорцин 0.2 н	182 ± 3.8	207 ± 4.6	252 ± 0.6	310 ± 5.5	70	103
Резорцин 0.01 н	171 ± 2.0	192 ± 2.8	241 ± 1.8	297 ± 6.1	70	105
Mn(II) 0.2 н	205 ± 3.8	230 ± 6.6	283 ± 1.0	300 ± 5.1	78	70
Mn(II) 0.01 н	203 ± 5.2	235 ± 3.2	267 ± 1.9	303 ± 5.6	64	68
Резорцин 0.2 н + Mn(II) 0.2 н	200 ± 5.8	222 ± 6.5	253 ± 3.0	287 ± 2.0	53	65
Резорцин 0.2 н + Mn(II) 0.01 н	200 ± 2.9	239 ± 3.9	240 ± 1.1	284 ± 6.3	40	45
Резорцин 0.01 н + Mn(II) 0.2 н	197 ± 4.8	212 ± 8.7	238 ± 1.1	279 ± 6.3	41	67
Резорцин 0.01 н + Mn(II) 0.01 н	201 ± 2.9	245 ± 3.9	231 ± 2.6	274 ± 5.7	30	29

2.3. UV-Vis-спектры системы резорцин–Mn(II). Из представленных на рис. 4 UV-Vis-спектров системы резорцин–Mn(II) можно заключить следующее. Во всех представленных системах с низкой концентрацией резорцина (0.0010 н) как в эквинормальном соотношении, так и при 4–40-кратных избытках ионов Mn(II) спектры поглощения смесей совпадают со спектром чистого резорцина (рис. 4, *а, в, д, ж*). Это позволяет предполагать отсутствие взаимодействий между резорцином и Mn(II) в этих растворах.

При использовании более высоких концентраций резорцина (0.010 н) спектр поглощения смесей изменяется для всех рассмотренных соотношений Mn(II) : резорцин (4:1, 1:1, 1:2.5, 1:10) (рис. 4, *б, з, е, з*). При этом отмечается исчезновение максимума поглощения резорцина при 190 нм и появление нового максимума в области 214–216 нм, а также увеличение интенсивности поглощения при 270 нм. Возможно, происходило частичное окисление резорцина. Это косвенно подтверждается спектрами поглощения чистого резорцина на рис. 4, *е* и *з*, которые не совпадают с таковыми на рис. 4, *б* и *з* и соответствуют виду спектров смеси резорцин–Mn(II). В пользу комплексования или другого взаимодействия резорцина и Mn(II) свидетельствует изменение спектров поглощения для эквинормальной смеси с 0.010 н концентрацией компонентов.

В следующей серии измерений UV-Vis-спектров концентрация резорцина составила 0.00050 н, а соотношения эквивалентных концентраций Mn(II) : резорцин – 1:1, 1:20 и 20:1, как в опытах по исследованию влияния токсикантов и их смесей на ряску. На рис. 5, *а–в* представлены спектры поглощения свежеприготовленных растворов, а на рис. 5, *г–е* – растворов, выдержанных в течение 20 ч с момента приготовления.

Спектры поглощения свежеприготовленных растворов смесей (рис. 5, *а–в*) практически полностью совпадают со спектрами двухатомного фенола.

В спектрах растворов Mn(II), резорцина и всех рассмотренных смесей (рис. 5, *г–е*), выдержанных в течение 20 ч, отсутствуют значимые изменения по сравнению с аналогичными спектрами для свежеприготовленных растворов. В спектре смеси с 20-кратным избытком Mn(II) интенсивность полосы поглощения в области от 212 до 400 нм немного выше, чем для свежеприготовленной смеси, но все характерные максимумы и минимумы сохраняются.

На основе спектров поглощения можно предположить, что в большинстве исследуемых смесей компоненты не взаимодействуют между собой ни в свежеприготовленных, ни в выдержанных в течение 20 ч растворах, что говорит об их стабильности во времени в условиях проводимого эксперимента.

Полученные данные UV-Vis-спектроскопии не противоречат результатам, полученным при исследовании токсичности систем Mn(II)–резорцин.

Выход электролитов после 30 мин выдерживания ряски с эквинормальными 0.2 н или 0.01 н смесями Mn(II) с резорцином повышается по сравнению с аналогичным параметром при индивидуальном воздействии растворов фенольного соединения или Mn(II). Наблюдаемый эффект проявляется в случае применения как свежеприготовленных, так и выдержанных в течение 20 ч растворов токсикантов.

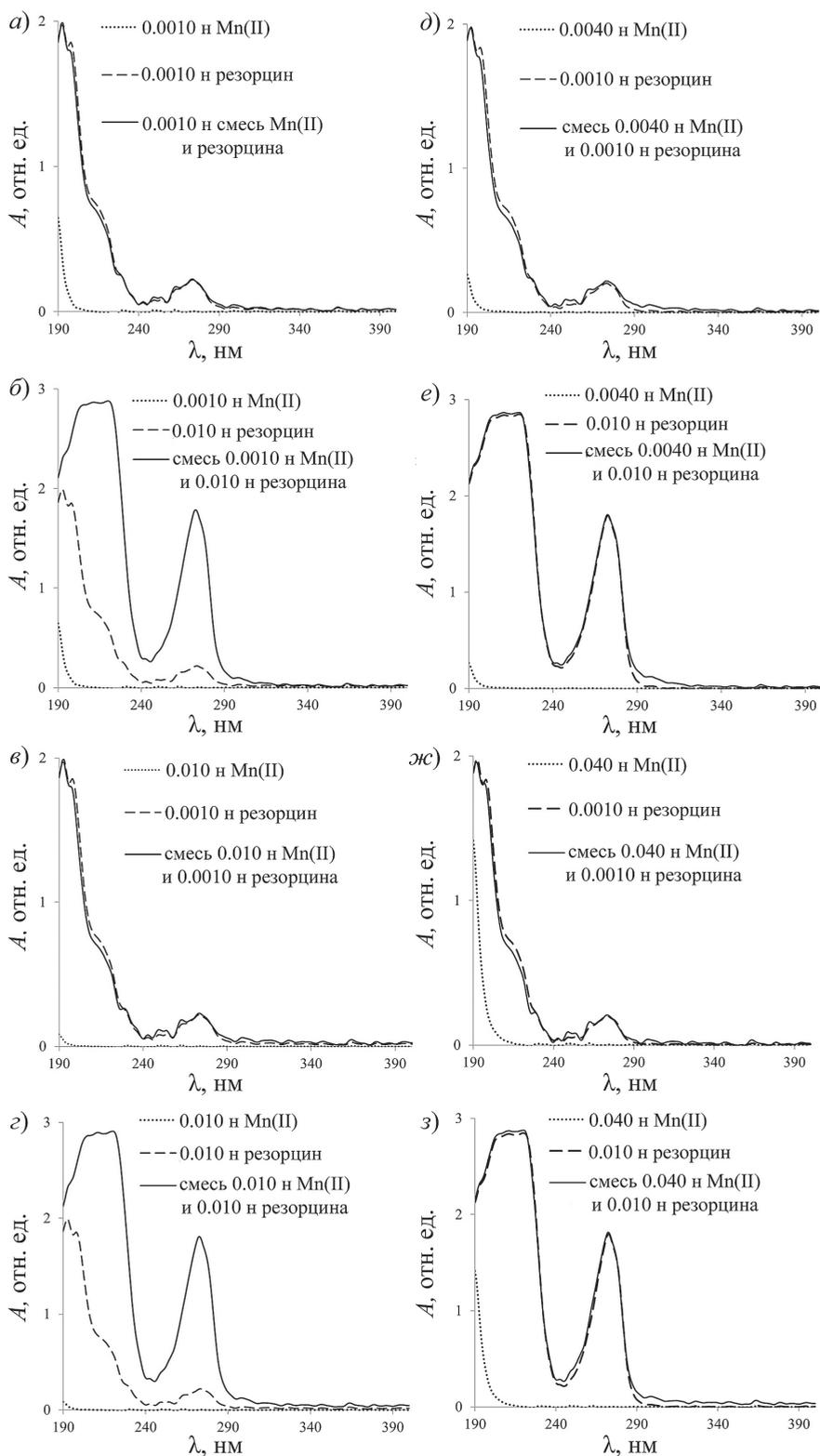


Рис. 4. UV-Vis-спектры растворов Mn(II), резорцина и их смесей с концентрацией Mn(II) 0.0010 н (а, б), 0.010 н (в, г), 0.0040 н (д, е) и 0.040 н (жс, з)

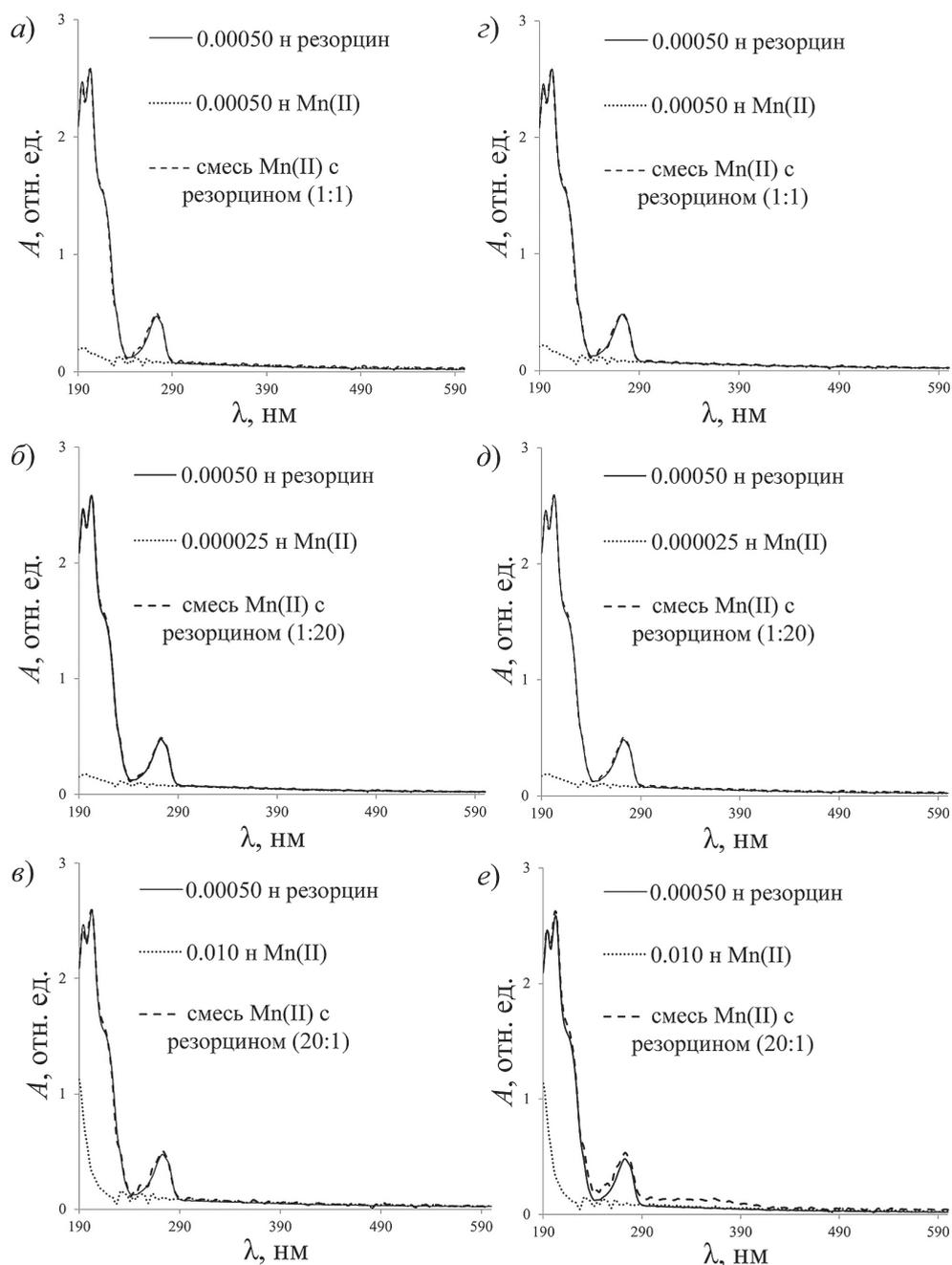


Рис. 5. UV-Vis-спектры свежеприготовленных (а–в) и выдержанных в течение 20 ч (з–е) растворов Mn(II), резорцина и их смесей с концентрацией Mn(II) 0.00050 н (а, з), 0.000025 н (б, д) и 0.010 н (в, е)

По UV-Vis спектрам видно, что между компонентами смеси не происходит взаимодействия, и повышение токсического действия может быть результатом синергического эффекта обоих компонентов. Снижение выхода электролитов в растворе резорцина после выдерживания с растениями происходит в условиях избытка фенольного соединения с высокой концентрацией. Вероятно, это происходит в резуль-

тате образования небольшого количества менее токсичного продукта, но в спектре поглощения зафиксировать его образование не удалось вследствие большого избытка резорцина.

Заключение

Таким образом, экспериментально продемонстрирована возможность усиления токсических эффектов Mn(II) и резорцина, оказываемых на водное растение *Lemna minor* (ряска) при совместном присутствии этих поллютантов в водных средах. Полученные результаты подтверждают необходимость учета реакций взаимодействия в смесях тяжелых металлов и фенольных соединений при оценке качества водных сред. Для этой цели может быть применима испытанная в данной работе тест-реакция ряски – нарушение проницаемости тканей растения в результате его контакта с токсикантами. Это довольно простой и экспрессный тест, так как время получения тест-отклика составляет меньше 2 ч. При этом количественная оценка проводится по фиксируемому при помощи кондуктометра выходу электролитов из растения в водную среду. В дальнейшем также необходимо сопоставить комбинированные эффекты марганца с более высокой степенью окисления и *para*-дигидроксибензола (гидрохинона), образующего при окислении *para*-бензохинон. Последние характеризуются устойчивостью, высоким окислительно-восстановительным потенциалом и повышенной токсичностью.

Благодарности. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и МОКНСМ в рамках научного проекта № 20-54-44012 Монг_а. В работе использовано оборудование Центра коллективного пользования «Научно-экспедиционный центр “Байкал”» (<https://ckp-rf.ru/catalog/ckp/3213559/>). Авторы признательны С.Э. Сергиенко за участие в эксперименте.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Ashfaq F, Inam A., Sahay S., Iqbal S. Influence of heavy metal toxicity on plant growth, metabolism and its alleviation by phytoremediation – a promising technology // J. Agric. Ecol. Res. 2016. V. 6, No 2. P. 1–19. <https://doi.org/10.9734/JAERI/2016/23543>.
2. Fan J., Daly R., Hobson P., Ho L., Brookes J. Impact of potassium permanganate on cyanobacterial cell integrity and toxin release and degradation // Chemosphere. 2013. V. 92, No 5. P. 529–534. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.03.022>.
3. Liu Y., Sanguanphun T., Yuan W., Cheng J.J., Meetam M. The biological responses and metal phytoaccumulation of duckweed *Spirodela polyrhiza* to manganese and chromium // Environ. Sci. Pollut. Res. 2017. V. 24, No 23. P. 19104–19113. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9519-y>.
4. Rajendran S., Priya T.A.K., Khoo K.S., Hoang T.K.A., Ng H.-S., Munawaroh H.S.H., Karaman C., Orooji Y., Show P.L. A critical review on various remediation approaches for heavy metal contaminants removal from contaminated soils // Chemosphere. 2022. V. 287, Pt. 4. Art. 132369. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132369>.

5. *Rebello S., Sivaprasad M.S., Anoopkumar A.N., Jayakrishnan L., Aneesh E.M., Narisetty V., Sindhu R., Binod P., Pugazhendhi A., Pandey A.* Cleaner technologies to combat heavy metal toxicity // *J. Environ. Manage.* 2021. V. 296. Art. 113231. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113231>.
6. *Xu H., Yang H., Ge Q., Jiang Zh., Wu Y., Yu Y., Han D., Cheng J.* Long-term study of heavy metal pollution in the northern Hangzhou Bay of China: Temporal and spatial distribution, contamination evaluation, and potential ecological risk // *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2021. V. 28, No 9. P. 10718–10733. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-11110-6>.
7. *Wang J., Cheng Q., Xue S., Rajendran M., Wu C., Liao J.* Pollution characteristics of surface runoff under different restoration types in manganese tailing wasteland // *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2018. V. 25, No 10. P. 9998–10005. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1338-2>.
8. *Fernando D.R., Lynch J.P.* Manganese phytotoxicity: New light on an old problem // *Ann. Bot.* 2015. V. 116, No 3. P. 313–319. <https://doi.org/10.1093/aob/mcv111>.
9. *Adebayo G.B., Orimolade B.O., Okoro H.K., Banwo M.A.* Ecotoxicological and risk assessment of hydroquinone cream residue on duckweed plants // *Niger. J. Pharm. Appl. Sci. Res.* 2019. V. 8, No 1. P. 61–65.
10. *Bähns H., Putschew A., Steinberg C.E.W.* Toxicity of hydroquinone to different freshwater phototrophs is influenced by time of exposure and pH // *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2012. V. 20, No 1. P. 146–154. <https://doi.org/10.1007/s11356-012-1132-5>.
11. *Stom D.J.* Influence of polyphenols and quinones on aquatic plants and their blocking of SH-groups // *Acta Hydrochim. Hydrobiol.* 1977. V. 5, No 3. P. 291–298. <https://doi.org/10.1002/aheh.19770050309>.
12. *Kim K.T., Lee Y.G., Kim S.D.* Combined toxicity of copper and phenol derivatives to *Daphnia magna*: Effect of complexation reaction // *Environ. Int.* 2006. V. 32, No 4. P. 487–492. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2005.11.002>.
13. *Stom D.I., Geel T.A., Shahova G.V., Aprelkova N.F., Medvedeva S.E., Menshikova O.A.* Influence of mixtures of phenols and metals on luminous bacteria // *Acta Hydrochim. Hydrobiol.* 1991. V. 19, No 1. P. 103–120. <https://doi.org/10.1002/aheh.19910190113>.
14. ISO 20079:2005. Water quality – determination of the toxic effect of water constituents and waste water to duckweed (*Lemna minor*) – duckweed growth inhibition test. ISO TC 147/SC 5, 2005. 23 p.
15. *Xiao J., Wang C., Liu H.* Fenton-like degradation of dimethyl phthalate enhanced by quinone species // *J. Hazard. Mater.* 2020. V. 382. Art. 121007. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121007>.

Поступила в редакцию 09.07.2023

Принята к публикации 17.12.2023

Столповская Елена Владимировна, кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории водной токсикологии НИИ биологии

Иркутский государственный университет

ул. Карла Маркса, д. 1, г. Иркутск, 664003, Россия

E-mail: stelchem@mail.ru

Суховнина Виктория Олеговна, аспирант

Байкальский музей СО РАН

ул. Академическая, д. 1, п. Листвянка, Иркутская обл., 664520, Россия

E-mail: biosvo@mail.ru

- Жданова Галина Олеговна**, научный сотрудник лаборатории водной токсикологии НИИ биологии
Иркутский государственный университет
ул. Карла Маркса, д. 1, г. Иркутск, 664003, Россия
E-mail: zhdanova86@ya.ru
- Бархатова Оксана Анатольевна**, кандидат биологических наук, доцент, заместитель декана по учебной работе географического факультета, доцент кафедры гидрологии и природопользования
Иркутский государственный университет
ул. Карла Маркса, д. 1, г. Иркутск, 664003, Россия
E-mail: barhat@georg.isu.ru
- Стом Алина Дэвардовна**, кандидат биологических наук, доцент географического факультета
Иркутский государственный университет
ул. Карла Маркса, д. 1, г. Иркутск, 664003, Россия
E-mail: apatania@yandex.ru
- Саксонов Михаил Наумович**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории водной токсикологии НИИ биологии
Иркутский государственный университет
ул. Карла Маркса, д. 1, г. Иркутск, 664003, Россия
E-mail: msaksonov@mail.ru
- Купчинский Александр Борисович**, кандидат биологических наук, директор
Байкальский музей СО РАН
ул. Академическая, д. 1, п. Листвянка, Иркутская обл., 664520, Россия
E-mail: bm@isc.irk.ru
- Лозовая Татьяна Сергеевна**, кандидат биологических наук, доцент
Иркутский национальный исследовательский технический университет
ул. Лермонтова, д. 83, г. Иркутск, 664074, Россия
E-mail: tnike75@mail.ru
- Толстой Михаил Юрьевич**, кандидат технических наук, доцент, заведующий кафедрой инженерных коммуникаций и систем жизнеобеспечения, директор инновационного центра «Энергоэффективность», научный руководитель лаборатории качества воды
Иркутский национальный исследовательский технический университет
ул. Лермонтова, д. 83, г. Иркутск, 664074, Россия
E-mail: tolstoi@istu.edu
- Филиппова Светлана Николаевна**, кандидат биологических наук, доцент кафедры биологии растительных клеток и биоинженерии биологического факультета
Белорусский государственный университет
просп. Независимости, д. 4, г. Минск, 220030, Беларусь
E-mail: FilippSN@bsu.by
- Стом Дэвард Иосифович**, доктор биологических наук, профессор, заслуженный работник Высшей Школы РФ, главный научный сотрудник Байкальского музея СО РАН, профессор биолого-почвенного факультета Иркутского государственного университета, заведующий лабораторией водной токсикологии НИИ биологии, профессор кафедры инженерных коммуникаций и систем жизнеобеспечения Иркутского национального исследовательского технического университета
Байкальский музей СО РАН
ул. Академическая, д. 1, п. Листвянка, Иркутская обл., 664520, Россия
Иркутский государственный университет
ул. Карла Маркса, д. 1, г. Иркутск, 664003, Россия
Иркутский национальный исследовательский технический университет
ул. Лермонтова, д. 83, г. Иркутск, 664074, Россия
E-mail: stomd@mail.ru

ORIGINAL ARTICLE

doi: 10.26907/2542-064X.2024.1.66-81

Combined Effect of Mn(II) and Resorcinol on Duckweed

E.V. Stolpovskaya ^{a*}, *V.O. Sukhovnina* ^{b**}, *G.O. Zhdanova* ^{a***}, *O.A. Barkhatova* ^{a****}, *A.D. Stom* ^{a*****},
M.N. Saksonov ^{a*****}, *A.B. Kupchinsky* ^{b*****}, *T.S. Lozovaya* ^{c*****},
M.Yu. Tolstoy ^{c*****}, *S.N. Filippova* ^{d*****}, *D.I. Stom* ^{a,b,c*****}

^aIrkutsk State University, Irkutsk, 664003 Russia

^bBaikal Museum, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Listvyanka, 664520 Russia

^cIrkutsk National Research Technical University, Irkutsk, 664074 Russia

^dBelarusian State University, Minsk, 220030 Belarus

E-mail: **stelchem@mail.ru*, ***biosvo@mail.ru*, ****zhdanova86@ya.ru*, *****barhat@georg.isu.ru*,
******apatania@yandex.ru*, ******msaksonov@mail.ru*, ******bm@jsc.irk.ru*, ******tnike75@mail.ru*,
******tolstoi@istu.edu*, ******FilippSN@bsu.by*, ******stomd@mail.ru*

Received July 7, 2023; Accepted December 17, 2023

Abstract

This study explores the combined toxic effect of Mn(II) and resorcinol (0.01 n and 0.2 n) on duckweed (*Lemna minor*). During the acute experiments, the plants released electrolytes into the aquatic environment after 30 min of exposure to the toxicants, indicating a disruption of tissue permeability as a test response. The experiments showed that the toxicity of the equinormal mixtures of resorcinol and Mn(II) (0.2 n each) increased relative to their single solutions. This was observed both in the freshly prepared solutions and in the solutions stored for 20 h prior to the experiments. The change in the UV absorption spectra indicates that there was complexation or other interaction between resorcinol and Mn(II) at equinormal concentrations (0.01 n). At the Mn(II) : resorcinol ratio of 1:20 (0.01 n Mn(II) and 0.2 n resorcinol), the toxicity of the system to duckweed decreased compared to the separate effects of these substances. The results obtained highlight the importance of considering the interactions between heavy metals and phenolic compounds when assessing the quality of aquatic environments.

Keywords: resorcinol, *Lemna minor*, Mn(II), electrical conductivity, membrane permeability, bio-testing, toxicity, combined action

Acknowledgements. This study was supported by the Russian Foundation for Basic Research and the Ministry of Education, Culture, Science, and Sports of Mongolia (project no. 20-54-44012 Mong_a). The equipment was provided by the Center for Collective Use “Baikal Research and Expedition Center” (<https://ckp-rf.ru/catalog/ckp/3213559>). We also thank S.E. Sergienko for participating in the experiments.

Conflicts of Interest. The authors declare no conflicts of interest.

Figure Captions

Fig. 1. Electrical conductivity of the incubation solutions with *L. minor* pre-exposed to Mn(II) (0.2 n), resorcinol (0.2 n), and their mixtures for 30 min: *a*) freshly prepared solutions; *b*) solutions stored for 20 h from the moment of preparation.

Fig. 2. Electrical conductivity of the incubation solutions with *L. minor* pre-exposed to Mn(II) (0.01 n), resorcinol (0.2 n), and their mixtures for 30 min: *a*) freshly prepared solutions; *b*) solutions stored for 20 h from the moment of preparation.

Fig. 3. Electrical conductivity of the incubation solutions with *L. minor* pre-exposed to Mn(II) (0.2 n), resorcinol (0.01 n), and their mixtures for 30 min: *a*) freshly prepared solutions; *b*) solutions stored for 20 h from the moment of preparation.

Fig. 4. UV-Vis spectra of Mn(II), resorcinol, and their mixtures. Mn(II) concentrations are 0.001 n (*a, b*), 0.010 n (*c, d*), 0.0040 (*e, f*), and 0.040 n (*g, h*).

Fig. 5. UV-Vis spectra of Mn(II), resorcinol, and their mixtures: freshly prepared (*a–c*) solutions, solutions stored for 20 h from the moment of preparation (*d–f*). Mn(II) concentrations are 0.00050 n (*a, d*), 0.000025 n (*b, e*), and 0.010 n (*c, f*).

References

1. Ashfaque F., Inam A., Sahay S., Iqbal S. Influence of heavy metal toxicity on plant growth, metabolism and its alleviation by phytoremediation – a promising technology. *J. Agric. Ecol. Res.*, 2016, vol. 6, no. 2, pp. 1–19. <https://doi.org/10.9734/JAERI/2016/23543>.
2. Fan J., Daly R., Hobson P., Ho L., Brookes J. Impact of potassium permanganate on cyanobacterial cell integrity and toxin release and degradation. *Chemosphere*, 2013, vol. 92, no. 5, pp. 529–534. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.03.022>.
3. Liu Y., Sanguanphun T., Yuan W., Cheng J.J., Meentemeyer M. The biological responses and metal phytoaccumulation of duckweed *Spirodela polyrrhiza* to manganese and chromium. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 2017, vol. 24, no. 23, pp. 19104–19113. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9519-y>.
4. Rajendran S., Priya T.A.K., Khoo K.S., Hoang T.K.A., Ng H.-S., Munawaroh H.S.H., Karaman C., Orooji Y., Show P.L. A critical review on various remediation approaches for heavy metal contaminants removal from contaminated soils. *Chemosphere*, 2022, vol. 287, pt. 4, art. 132369. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132369>.
5. Rebello S., Sivaprasad M.S., Anoopkumar A.N., Jayakrishnan L., Aneesh E.M., Narisetty V., Sindhu R., Binod P., Pugazhendhi A., Pandey A. Cleaner technologies to combat heavy metal toxicity. *J. Environ. Manage.*, 2021, vol. 296, art. 113231. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113231>.
6. Xu H., Yang H., Ge Q., Jiang Zh., Wu Y., Yu Y., Han D., Cheng J. Long-term study of heavy metal pollution in the northern Hangzhou Bay of China: Temporal and spatial distribution, contamination evaluation, and potential ecological risk. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 2021, vol. 28, no. 9, pp. 10718–10733. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-11110-6>.
7. Wang J., Cheng Q., Xue S., Rajendran M., Wu C., Liao J. Pollution characteristics of surface runoff under different restoration types in manganese tailing wasteland. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 2018, vol. 25, no. 10, pp. 9998–10005. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1338-2>.
8. Fernando D.R., Lynch J.P. Manganese phytotoxicity: New light on an old problem. *Ann. Bot.*, 2015, vol. 116, no. 3, pp. 313–319. <https://doi.org/10.1093/aob/mcv111>.
9. Adebayo G.B., Orimolade B.O., Okoro H.K., Banwo M.A. Ecotoxicological and risk assessment of hydroquinone cream residue on duckweed plants. *Niger. J. Pharm. Appl. Sci. Res.*, 2019, vol. 8, no. 1, pp. 61–65.
10. Bährs H., Putschew A., Steinberg C.E.W. Toxicity of hydroquinone to different freshwater phototrophs is influenced by time of exposure and pH. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 2012, vol. 20, no. 1, pp. 146–154. <https://doi.org/10.1007/s11356-012-1132-5>.
11. Stom D.J. Influence of polyphenols and quinones on aquatic plants and their blocking of SH-groups. *Acta Hydrochim. Hydrobiol.*, 1977, vol. 5, no. 3, pp. 291–298. <https://doi.org/10.1002/ahch.19770050309>.
12. Kim K.T., Lee Y.G., Kim S.D. Combined toxicity of copper and phenol derivatives to *Daphnia magna*: Effect of complexation reaction. *Environ. Int.*, 2006, vol. 32, no. 4, pp. 487–492. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2005.11.002>.
13. Stom D.I., Geel T.A., Shahova G.V., Aprelkova N.F., Medvedeva S.E., Menshikova O.A. Influence of mixtures of phenols and metals on luminous bacteria. *Acta Hydrochim. Hydrobiol.*, 1991, vol. 19, no. 1, pp. 103–120. <https://doi.org/10.1002/ahch.19910190113>.

14. ISO 20079:2005. Water quality – determination of the toxic effect of water constituents and waste water to duckweed (*Lemna minor*) – duckweed growth inhibition test. ISO TC 147/SC 5, 2005. 23 p.
15. Xiao J., Wang C., Liu H. Fenton-like degradation of dimethyl phthalate enhanced by quinone species. *J. Hazard. Mater.*, 2020, vol. 382, art. 121007. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121007>.

Для цитирования: Столповская Е.В., Суховнина В.О., Жданова Г.О., Бархатова О.А., Стом А.Д., Саксонов М.Н., Купчинский А.Б., Лозовая Т.С., Толстой М.Ю., Филиппова С.Н., Стом Д.И. Комбинированное действие Mn(II) и резорцина на ряску // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2024. Т. 166, кн. 1. С. 66–81. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.1.66-81>.

For citation: Stolpovskaya E.V., Sukhovnina V.O., Zhdanova G.O., Barkhatova O.A., Stom A.D., Saksonov M.N., Kupchinsky A.B., Lozovaya T.S., Tolstoy M.Yu., Filippova S.N., Stom D.I. Combined effect of Mn(II) and resorcinol on duckweed. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2024, vol. 166, no. 1, pp. 66–81. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.1.66-81>. (In Russian)

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

УДК 57.08

doi: 10.26907/2542-064X.2024.1.82-125

СЕКВЕСТРАЦИЯ УГЛЕРОДА АТМОСФЕРЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ

Д.М. Глазунова, П.Ю. Галицкая, С.Ю. Селивановская

Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, 420008, Россия

Аннотация

В статье рассмотрены биотехнологические способы изъятия углекислого газа из атмосферы и промышленных выбросов с использованием микроводорослей, дано описание микроводорослей как группы организмов, охарактеризованы виды, используемые в биотехнологиях, а также описан метаболический процесс, на основе которого возможно улавливание микроводорослями углекислого газа. Кроме того, описаны биотехнологические системы и устройства, имеющиеся на сегодняшний день, охарактеризованы ключевые факторы, которые необходимо учесть для эффективного использования микроводорослей, а также перечислены виды полезных продуктов, которые могут быть получены из биомассы микроводорослей после процесса секвестрации углекислого газа атмосферы.

Ключевые слова: углекислый газ, секвестрация углерода, микроводоросли, биомасса микроводорослей, биотехнологические установки для наращивания микроводорослей.

Введение

Глобальное изменение климата является одной из наиболее острых экологических проблем современности [1–3]. Эти изменения антропогенно обусловлены и связаны с выбросом так называемых парниковых газов (ПГ), образующихся при сжигании угля, нефти и газа, разведении животных, промышленном производстве и других процессах. CO₂ является наиболее массово выбрасываемым парниковым газом, образующимся в основном (77%) при сжигании ископаемого топлива [4]. В настоящее время активно разрабатываются методы снижения содержания углекислого газа в атмосфере с целью минимизации интенсивности парникового эффекта. Все эти методы можно разделить на две главные группы: методы, связанные с предотвращением поступления CO₂ в атмосферу в результате изменения технологических цепочек, снижения энергопотребления и других действий, и методы, направленные на улавливание CO₂ из выхлопных газов или атмосферы и его захоронение (секвестрацию) [5–8]. Улавливание углекислого газа из выбросов промышленных и топливно-энергетических предприятий представляется целесообразным, поскольку именно в них этот газ содержится в высоких концентрациях [9–11]. Среди методов улавливания CO₂ из промышленных выбросов выделяют химические, физические и биологические методы [12–15]. Последние являются вы-

сокоэффективными, не требуют применения реагентов, которые бы приводили к вторичному загрязнению окружающей среды, как, например, при использовании химических методов. Биологические методы основаны на использовании живых организмов, поглощающих углекислый газ для своих метаболических процессов, и последующем использовании/захоронении биомассы этих организмов или продуктов их жизнедеятельности [3, 16–18]. На фоне высокого разнообразия биологических методов улавливания углекислого газа из атмосферы технологии его улавливания из промышленных выбросов находятся лишь в стадии разработки – в литературе представлены сведения о лабораторных и полупромышленных системах с ограниченными условиями использования [19, 20]. Основной проблемой масштабирования разрабатываемых систем является необходимость охлаждения промышленных выбросов от исходных 100–200 °С до 40–60 °С, адаптивных для роста и развития микроводорослей [21].

Наиболее активно в биотехнологиях улавливания углекислого газа используются микроводоросли и цианобактерии, фототрофные зеленые бактерии, водородокисляющие бактерии, карбоксидобактерии и метаногенные археи [3, 4, 22–25]. Микроводоросли – это одноклеточные фотоавтотрофные организмы, содержащие хлорофилл, обладающие высокой скоростью роста и большей по сравнению с наземными растениями скоростью фиксации углерода атмосферы. В ряде литературных источников к микроводорослям также относят цианобактерии. На долю микроводорослей приходится почти 50% глобальной фиксации CO₂ [26, 27]. Различные виды микроводорослей способны обитать в условиях пониженных и повышенных температур, загрязненности, дефицита влаги. Все это делает их потенциальными агентами для использования в промышленных биотехнологиях улавливания углекислого газа [28]. Использование микроводорослей для улавливания CO₂ показало, что они способны функционировать как при низких, так и при высоких концентрации газа, в том числе присутствующего в выбросах электростанций. Кроме того, водоросли могут эффективно утилизировать загрязняющие вещества, содержащие азот и серу, что свидетельствует о потенциальном снижении выбросов NO_x и SO_x [20, 28].

В статье представлен обзор наиболее эффективных видов микроводорослей, являющихся секвестраторами, и осуществляемых ими биохимических процессов, а также рассмотрены биотехнологические системы и устройства, которые могут быть перспективными для улавливания углекислого газа из промышленных выбросов, и получаемые в итоге полезные продукты.

1. Классификация микроводорослей

Существует три основных классификации водорослей: микроводоросли, макроводоросли и цианобактерии [29]. Микроводоросли, или микрофиты, определяются как микроскопические эукариотические одноклеточные или колониальные организмы. Эти организмы обычно встречаются в водной среде (как в пресноводных, так и в морских экосистемах) [30]. Макроводоросли, также называемые морскими водорослями, представляют собой классификацию многоклеточных живых организмов, которые могут существовать независимо или в составе сообщества в экосистеме [31]. Цианобактерии (сине-зеленые водоросли) представляют собой классификацию грамотрицательных прокариотических фототрофных организмов размером от 1 мкм до 30 мкм [30].

Классификация микроводорослей в научной литературе противоречива: так, в некоторых классификациях сине-зеленые водоросли добавляют в группу микроводорослей. Согласно такой классификации, выделяют следующие классы микроводорослей: класс *Chlorophyceae* (зеленые водоросли), входящий в отдел *Chlorophyta*, класс *Bacillariophyceae* (диатомовые водоросли, или бациллариофициевые водоросли), входящий в отдел *Bacillariophyta*, класс *Chrysophyceae* (золотистые водоросли), входящий в отдел *Ochrophyta*, и класс *Cyanophyceae* (сине-зеленые водоросли), входящий в отдел *Cyanobacteria* [32].

В отделе зеленых водорослей *Chlorophyta* по приблизительным подсчетам имеется от 13000 до 20000 видов. Класс *Chlorophyceae* насчитывает 3529 видов зеленых водорослей. Среди них встречаются как одноклеточные и колониальные организмы, так и крупные макроскопические виды, обитающие преимущественно в пресноводных водоемах, хотя встречаются и морские, почвенные и наземные формы [33]. Отдел диатомовых водорослей *Bacillariophyta* насчитывает около 10000 видов. К классу *Bacillariophyceae* относятся около 300 родов, включающих 20–25 тыс. видов, но, по другим оценкам, считается, что истинное количество видов диатомей может достигать 200 тыс. Диатомовые водоросли являются одноклеточными, однако встречаются и колониальные формы. Эти водоросли обитают в морских и пресных водоемах [34]. В отделе *Ochrophyta* к микроскопическим водорослям относят класс *Chrysophyceae* золотистых водорослей. Известно около 800 видов золотистых водорослей. Распространены они преимущественно в пресных водах [34, 35]. В отделе *Cyanobacteria* сине-зеленые водоросли, являющиеся прокариотами, в одном случае относят к водорослям (при изучении с точки зрения альгологии), в других же случаях (при изучении с точки зрения бактериологии) их включают в состав бактерий. На данный момент альгологически описано более 1000 видов, относящихся к 175 родам. Бактериологическими методами в настоящее время подтверждено существование не более 400 видов сине-зеленых водорослей (цианобактерий). Представители данного вида бывают одноклеточными, нитчатыми и колониальными и обитают в соленых и пресных водоемах [36].

2. Метаболический процесс, лежащий в основе биотехнологии секвестрации углекислого газа

Фиксация CO_2 микроводорослями относится к процессу преобразования CO_2 и воды в органические соединения в результате фотосинтеза [37]. Реакция фотосинтеза подразделяется на светозависимую и светонезависимую стадии. Первая стадия – светозависимая, на которой микроводоросли улавливают и накапливают энергию солнечного света, превращая АДФ и НАДФ⁺ в молекулы, несущие энергию, АТФ и НАДФН. На второй стадии фотосинтеза, которая является светонезависимой, микроводоросли улавливают CO_2 , образуя органические соединения в цикле Кальвина – Бенсона (восстановительном пентозофосфатном цикле) с ранее генерированными молекулами АТФ и НАДФН [20].

Цикл Кальвина – Бенсона состоит из трех фаз: карбоксилирования, восстановления и регенерации [4]. В фазе карбоксилирования CO_2 включается в рибулозо-1,5-бисфосфат при катализе рибулозо-1,5-бисфосфаткарбокси-

лазой, в результате чего образуются две молекулы 3-фосфоглицерата. Затем 3-фосфоглицерат подвергается фосфолированию и восстановлению, катализируемым 3-фосфоглицераткиназой и глицеральдфосфатдегидрогеназой соответственно, с образованием глицеральдегид-3-фосфата. Наконец, рибулозо-1,5-бисфосфат регенерируется посредством ряда реакций и вступает в следующий цикл фиксации. Микроводоросли обычно поглощают газообразный CO_2 в качестве субстрата для рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазы. Процесс фиксации углекислого газа микроводорослями высокоэффективен. Показано, что 100 т биомассы микроводорослей улавливают порядка 183 т CO_2 [38–40].

3. Биотехнологические системы и устройства

Система улавливания CO_2 микроводорослями представляет собой соединенные с источником выброса резервуары с водой и питательными элементами, оснащенные системой естественного или искусственного освещения для обеспечения фотосинтеза, а также часто – системой перемешивания. В зависимости от того, сообщаются ли резервуары с атмосферой, их подразделяют на открытые и закрытые. Закрытые резервуары часто называют биореакторами. К открытым системам относятся пруды и многослойные пруды, к закрытым – фотобиореакторы разнообразных конструкций, описание которых представлено ниже [20]. В зависимости от способа роста микроводорослей и закрытые, и открытые резервуары делятся на подвесные и прикрепленные. В системах с подвешенным ростом вода проходит через свободно плавающие водоросли, в системах с прикрепленным ростом – через микроводоросли, неподвижно закрепленные на внутренних поверхностях и конструкциях резервуара [41].

Во всех системах улавливание углекислого газа сопровождается увеличением биомассы микроводорослей. Отсутствие перемешивания в отдельных локациях/зонах таких систем приводит к частичному самоосаждению микроводорослей. Осажденные микроводоросли удаляют и либо используют непосредственно саму биомассу, либо извлекают из нее компоненты для получения полезных продуктов.

3.1. Открытые подвесные системы

3.1.1. Открытые пруды. Открытый пруд представляет собой замкнутый искусственный водоем глубиной 15–25 см [20], снабженный системой перемешивания водных масс [37]. Углекислый газ в составе выбросов подается в пруд и обеспечивает барботаж. Дополнительным источником углекислого газа является атмосферный воздух. Площади открытых прудов, используемых для улавливания углекислого газа с помощью микроводорослей, различаются. При проведении предварительных экспериментов площадь таких прудов составляет порядка 3.0–3.5 м², в то время как экспериментальные масштабируемые пруды имеют площади от 28.0 м² до 100 м² и более [4]. Однако для применения таких прудов в промышленном масштабе существует ограничение в виде высокой температуры промышленных выбросов, вследствие чего необходимо их предварительное охлаждение. Несмотря на это, имеется пример исследования, когда дымовые газы, образующиеся при сжигании угля, подавались на дно таких прудов через три равномерно распределенные зоны аэрации. Авторы отмечают, что при подаче

дымовых газов повышалась концентрация растворенного углерода в среде, что приводило к лучшей скорости фиксации углекислого газа [41].

К преимуществам данной системы можно отнести простоту конструкции, низкую стоимость, удобство эксплуатации [4]. Но есть и существенные недостатки: большая занимаемая площадь, нестабильные условия культивирования, трудности управления, высокая вероятность загрязнения, большие потери воды за счет испарения, неравномерность освещения на различных глубинах.

3.1.2. Многоярусные пруды. Многоярусный пруд состоит из нескольких ярусов открытых прудов, расположенных один над другим. Экспериментальный масштаб многоярусных прудов достигает объемов 2000–40000 л [42]. Такой пруд был успешно использован для культивирования микроводорослей в сточных водах фуражных культур и навоза [20]. Однако данные о масштабном использовании таких прудов для улавливания промышленных выбросов отсутствуют.

Преимущества и недостатки многоярусных прудов аналогичны таковым для простых одноярусных, но дополнительными преимуществами многоярусных прудов являются меньшая потребность в площади и более высокая экономическая эффективность [43–45].

3.2. Закрытые подвесные системы (биореакторы). Для всех закрытых систем существует общая технологическая задача – отвод образующегося кислорода, а также недоуловленного углекислого газа и других газов в составе промышленных выбросов. Такая задача в большинстве случаев решается с помощью газоотводящей трубки с фильтром внутри [46, 47].

3.2.1. Фотобиореактор с восходящим потоком. Этот тип реактора состоит из сосуда цилиндрической формы, который располагается вертикально, и может быть изготовлен из стекла или пластмассы. Подача CO_2 осуществляется снизу и обеспечивает перемешивание слоев и абсорбцию газа жидкостью. Потоки жидкости в таком реакторе разделены на восходящие и нисходящие. Для увеличения эффективности растворения газа в жидкости могут быть использованы дополнительные приемы, в частности пневматическое перемешивание [48] и подача воздуха для увеличения общего количества пузырьков. Среди преимуществ такого реактора можно отметить высокий массоперенос, низкое потребление энергии, простоту работы в стерильных условиях, низкий уровень фотоингибирования и фотоокисления [49]. К недостаткам относятся трудность масштабирования из-за необходимости соблюдения оптимального соотношения площади поверхности и объема, наличие гидродинамического стресса для культуры водорослей, сложность контроля температуры, высокие эксплуатационные расходы на производство и техническое обслуживание, сложность обеспечения равномерного во всех слоях естественного освещения, сложность сборки конструкций фотобиореактора. Имеется ряд исследований с применением такого типа фотобиореактора, где осуществлялась подача промышленных дымовых газов, образующихся при сжигании угля [50, 51].

3.2.2. Трубчатый фотобиореактор. Единичный трубчатый фотобиореактор представляет собой трубку, соединенную с резервуаром с водорослями, через который жидкость прокачивается со скоростью от 30 до 50 см/с при помощи насоса. Трубка изготавливается из светопроницаемого материала (стекла или пластика), имеет диаметр 5–20 см и длину до 100 см [42, 49]. Освещение

может быть естественным (при расположении на открытом воздухе) или искусственным. Как правило, промышленно используемые трубчатые фотобиореакторы состоят из нескольких (от десятков до сотен) трубок с общим резервуаром, системами циркуляции и удаления избыточной биомассы. Трубки могут быть расположены горизонтально, заборобразно, вертикально, спирально и наклонно [49, 52].

Достоинствами такого фотобиореактора являются большая площадь освещаемой поверхности [49], высокая продуктивность микроводорослей вследствие достижения оптимальных для них условий во всем объеме реактора [20], отсутствие осаждения биомассы водорослей в силу постоянного и интенсивного перемешивания [49], относительная дешевизна, возможность использования как внутри, так и снаружи помещений (в соответствующих климатических условиях) [53]. К недостаткам трубчатых фотобиореакторов следует отнести ограниченные размеры единичного биореактора, необходимость эффективно удалять кислород [20], высокие энергозатраты на перемешивание для предотвращения обрастания, плохой массоперенос, риск фотоингибирования, сложность контроля температуры [53].

Необходимо отметить, что трубчатые фотобиореакторы являются на сегодняшний день наиболее массово используемыми в промышленности для наращивания биомассы микроводорослей [46, 54]. Примеров промышленного использования таких реакторов для улавливания углекислого газа из выбросов нами обнаружено не было, однако потенциал их использования высок.

3.2.3. Пакетный фотобиореактор. Как и трубчатый, пакетный фотобиореактор состоит из нескольких (от единиц до сотен) единичных реакторов. Каждый единичный реактор представляет собой фотопроницаемый пакет из плотного полиэтилена (или другого полимера) объемом до 50 л. Пакеты снабжены системой герметических входных и выходных отверстий для трубок: снизу – для подачи газа (чистого CO_2 или в смеси), сверху – для отвода кислорода и других газов. В случае с масштабными фотобиореакторами подача питательной среды и газов является автоматизированной. Освещение может быть как искусственным, так и от прямых солнечных лучей за счет размещения системы на открытом воздухе. Расположение возможно как внутри помещений, так и снаружи [55]. Пакеты подвешиваются на специальные стойки и располагаются вертикально или V-образно (если пакет имеет не прямоугольную, а трубчатую форму). Подача углекислого газа снизу обеспечивает барботаж и предотвращает оседание клеток [49, 50]. После достижения максимальной величины биомассы водорослей пакеты оставляют на некоторое время без барботажа для осаждения клеток, затем декантируют жидкость и изымают биомассу.

Преимуществами такого типа фотобиореактора являются простота его конструкции и материалов, а также возможность масштабирования. Из недостатков можно отметить сложность контроля температуры, ингибирование роста клеток из-за большого количества накопленной биомассы, неудобства в процессе декантации и изъятия биомассы.

Известно, что такой тип фотобиореактора был применен в одном из исследований с использованием дымовых газов от промышленного сжигания угля [56].

3.2.4. Плоский фотобиореактор. Данная конструкция состоит из прозрачных или светопроницаемых плоских панелей из стекла, пластика или плексигла-

са, по которым циркулируют культуры микроводорослей [52]. Плоская панель фотобиореактора имеет толщину 10–20 см, высота и ширина при этом ограничены лишь физическими размерами материалов, из которых она изготавливается. Панель располагается вертикально, снизу подается углекислый газ, сверху устанавливается система отвода кислорода. Конструкция фотобиореактора предполагает высокое отношение площади поверхности к объему, что обеспечивает равномерную освещенность, экономичность, возможность использования реакторов значительных размеров (вмещающих до 2000 л) и высокую производительность биомассы. Эффективность его работы может быть повышена за счет добавления внутренних перегородок [52, 54, 57, 58].

Недостатками данного типа фотобиореактора являются наличие гидродинамического стресса для культуры водорослей, ограниченная оптимальная концентрация улавливания углекислого газа от 5 до 10% (об.), необходимость использования дополнительных конструкций при масштабировании, возможность обрастания стенок фотобиореактора микроводорослями [37].

Применение таких фотобиореакторов ограничивается лишь лабораторным масштабом с использованием в экспериментах чистого CO_2 , но не промышленных выбросов предприятий.

3.3. Прикрепленные ростовые реакторы. Закрытые системы. Многие организмы лучше растут в прикрепленном состоянии, поэтому существует несколько видов такого типа реакторов, различающихся площадью поверхности, материалом, а также наличием границы раздела между зонами, в которых присутствуют и отсутствуют водоросли. В таких реакторах организмы растут благодаря биопленочной системе. При этом микроводоросли способны прикрепляться к питательным средам/поверхностям за счет выделяемых в течение своего жизненного цикла внеклеточных веществ полимерной природы [20], что приводит к образованию гидратированного матрикса биопленки. Эти вещества в основном состоят из полисахаридов, белков, нуклеиновых кислот и липидов [59].

3.3.1. Мембранный фотобиореактор представляет собой воздушный или трубчатый фотобиореактор, в который интегрирована мембрана для получения мелких пузырьков диаметром 5.5–10.1 мм для лучшего массопереноса CO_2 в среду [20]. В таком типе реактора микроводоросли растут, закрепившись на мембране. Дополнительно мембрана может действовать как фильтр, отделяя нужные газы от смеси газового потока за счет специфических свойств, в частности проницаемости и селективности [60]. Чаще всего используются мембраны из полимерных материалов, а также пропиленовые микропористые мембраны и мембраны из полых волокон (холофайбера) [20, 60–62].

Преимуществами от внедрения мембран в фотобиореактор являются увеличение эффективности его работы и легкость сбора микроводорослей с поверхности мембраны. К недостаткам относятся повышение себестоимости, дополнительные требования к физико-химическим характеристикам (рН, температура и др.) питательной среды и газовой смеси из-за нестойкости материала мембраны к ним, образование отходов в виде отработанных мембран [60].

Такой тип фотобиореактора используется преимущественно в экспериментах лабораторного масштаба с применением чистого коммерческого CO_2 , но не с использованием промышленных выбросов [63, 64].

3.3.2. Фильтрационный фотобиореактор состоит из прозрачного резервуара для культивирования, заполненного микроводорослями, и рециркуляционного резервуара без микроводорослей. Эти резервуары разделены между собой мембранным фильтром. Работа фильтрационного фотобиореактора основана на биопленочной системе, позволяющей микроводорослям и бактериям с помощью выделяемых ими внеклеточных полимерных веществ прикрепляться к питательным средам [65]. Для начала работы фильтрационного фотобиореактора требуются инокулированные клетки микроводорослей, помещенные в резервуар для культивирования. По мере питания средой через мембрану клетки микроводорослей отфильтровываются и закрепляются на мембране, образуя биомассу. Они легко смываются жидкой средой, после чего можно собрать жизнеспособные клетки. Затем жидкая среда переносится из рециркуляционного резервуара и непрерывно поступает в резервуар для культивирования. Эта система легко запускается и позволяет исключить затраты на сбор биомассы для последующей обработки, что является значимым преимуществом. К недостаткам следует отнести необходимость контроля скорости потока среды [20].

3.3.3. Реакторы с биокапельным фильтром – Bio-trickling filter (BTF). Данный тип реактора представляет собой вертикальную конструкцию, зачастую цилиндрической формы, и отличается тем, что материал с организмами расположен в объеме, а не в плоскости. Верхняя часть конструкции состоит из системы, которая распыляет питательную жидкость сверху вниз, и слоя из природных или синтетических материалов (это могут быть стекло или пластик). На эти материалы, изначально не содержащие нативной флоры, вручную наносят необходимые виды микроводорослей. В нижнюю часть конструкции подается поток загрязненного углекислым газом воздуха, который проходит снизу вверх через слой материалов, и CO_2 переносится в водорослевую биопленку. Тем временем очищенный газ извлекается из верхней части реактора с помощью внутреннего воздушного компрессора. Таким образом, в системе реактора с биокапельным фильтром протекают следующие процессы: перевод CO_2 в жидкую фазу, адсорбция CO_2 биопленкой водорослей, использование CO_2 водорослевой биопленкой [66, 67].

Преимуществами данного типа реактора являются большой прирост биомассы за счет того, что микроводоросли растут в объеме, а не в плоскости, простота управления, способность удалять все виды загрязнений. К недостаткам относятся затруднительный сбор биомассы, низкая прочность натуральных материалов, проблемы при очистке кислых газов, засорение, высыхание, необходимость прокладки каналов, перепады высокого давления и образование отходов [68].

4. Ключевые факторы для эффективного использования микроводорослей

Микроводоросли могут расти практически везде (в воде, на твердых поверхностях, в том числе на снегу) и при различных температурах. Тем не менее для эффективного культивирования и наращивания биомассы микроводорослей требуется соблюдение оптимальных условий. Важными факторами для наращивания микроводорослей являются концентрация CO_2 , наличие макро- и микроэле-

ментов, pH, температура, интенсивность света и цикл свет/темнота, отсутствие токсичных соединений [4, 20].

4.1. Концентрация CO₂. Водные фотосинтезирующие организмы, такие как микроводоросли и цианобактерии, способны приспосабливаться к широкому диапазону концентраций CO₂. Оптимальный уровень CO₂ для роста микроводорослей и самый высокий уровень толерантности к CO₂ различаются у разных штаммов микроводорослей [4]. Водоросли могут фиксировать CO₂ в диапазоне концентраций от 0.0040 до 100%. Согласно исследованиям, оптимальная фиксация CO₂ достигается при концентрациях от 2 до 5%. [46, 69]. Вместе с тем ряд штаммов микроводорослей способен активно расти при концентрации CO₂ 0.03–0.06%, что соответствует его содержанию в атмосфере, тогда как другие штаммы эффективно фиксируют CO₂ из выбросов даже при его концентрациях на уровне 6–15% [20].

CO₂ является субстратом для фотосинтетической фиксации углерода, поэтому скорость поступления CO₂ является ключевым фактором для эффективного протекания фотосинтетических реакций. Процесс растворения атмосферного CO₂ в воде, последующие процессы уравнивания растворенного CO₂, бикарбоната и карбоната, диффузия этих растворенных форм неорганического углерода в клетки и к месту фиксации CO₂ в хлоропластах являются наиболее важными факторами, которые влияют на скорость фотосинтеза [70].

Повышенная концентрация CO₂ способствует фотосинтетической эффективности микроводорослей и их размножению. При этом для большинства видов концентрация CO₂ выше 5% является токсичной [71, 72]. Следует отметить, что повышенные концентрации CO₂ чаще всего встречаются в выбросах промышленных предприятий. В составе таких выбросов присутствуют примеси (например, оксиды серы и азот), вызывающие дополнительное ингибирование роста микроводорослей [71, 73, 74]. Типичная концентрация CO₂ в дымовых газах составляет 15%, что примерно в 400 раз больше по сравнению с атмосферным CO₂ [68].

4.2. Содержание макро- и микроэлементов. Основными элементами, которые необходимы для роста и секвестрации углерода фотоавтотрофными микроводорослями, являются углерод, азот и фосфор. Также для эффективного культивирования обычно добавляют микроэлементы, такие как металлы (Mg, Ca, Mn, Zn, Cu, Mo, Fe), и витамины. Оптимальные уровни азота и фосфора и соотношение углерода, азота и фосфора будут способствовать быстрому росту и эффективной фиксации CO₂ [37]. Помимо углерода важнейшим элементом, необходимым для питания микроводорослей, является азот [75], входящий в состав как нуклеиновых кислот, так и белков. Аммонийный азот выступает в качестве основного источника азота для ассимиляции микроводорослями и непосредственно связан с их первичным метаболизмом [49]. Фосфор является третьим наиболее важным питательным веществом для роста микроводорослей. Он необходим для фотосинтеза, метаболизма, образования ДНК, АТФ и клеточной мембраны [20]. Микроэлементы в значительной степени необходимы для метаболизма, роста клеток микроводорослей и эффективного фотосинтеза [20, 76]. Наиболее часто для выращивания микроводорослей используются среды Болда и Тамия [77, 78].

4.3. pH. Уровень pH существенно влияет на активность метаболических путей, связанных с ферментами и поглощением ионов клетками микроводорослей [79]. Кислотность (pH) культур очень важна, так как pH определяет доступность CO_2 и питательных веществ для микроводорослей и цианобактерий. При низких значениях pH (< 5) в водной среде образуется угольная кислота, а в сильнощелочных средах (pH > 11) в растворе присутствует карбонат, что ограничивает доступность CO_2 и, следовательно, подавляет рост клеток и производство биомассы. Оптимальный pH для производства биомассы варьируется для каждого вида в узком диапазоне и обычно зависит от штамма [37]. Так, для *Synechococcus sp.* и *Spirulina platensis* это pH 6.8 и 9 соответственно, в то время как *Chlorella sp.* может расти при pH < 4 [70, 80].

Следует учитывать, что pH сильно зависит от содержания и формы существования углерода [75]. Так, в работе [81] выделили ацидофильную *Chlamydomonas acidophila*, эффективность фотосинтеза которой на 50% выше при pH 2.5, чем при pH 6. Причем штамм способен расти и при pH 9, так как *C. acidophila* способна преобразовывать бикарбонат, в виде которого углерод присутствует в щелочной среде, в CO_2 . При введении 15% CO_2 скорость его удаления увеличивалась с ростом pH.

4.4. Температура. Большинство видов микроводорослей и цианобактерий лучше всего растут при оптимальной температуре от 15 до 30 °C (для микроводорослей) и от 20 до 35 °C (для цианобактерий) [37]. Значительное повышение температуры за пределы диапазонов отрицательно влияет на многие аспекты роста и метаболизма микроорганизмов, в частности на эффективность поглощения и использования питательных веществ, активность ферментов и скорость фиксации CO_2 .

Низкая температура приводит к снижению активности фермента рибулозобисфосфаткарбоксилазы, участвующего в первой, основной стадии фиксации углерода в процессе фотосинтеза. Высокая температура подавляет скорость метаболизма микроводорослей и снижает растворимость CO_2 [37, 61, 72]. Пониженная концентрация CO_2 , в свою очередь, вызывает фотодыхание, при котором фермент рибулозобисфосфаткарбоксилазы связывается с O_2 , а не с CO_2 , что, как следствие, снижает скорость биоконверсии углерода на 20–30% [82, 83].

Основная проблема при улавливании CO_2 из дымовых газов связана с их высокой температурой, которая ограничивает рост ряда штаммов. В связи с этим целесообразно работать с термофильными штаммами микроводорослей, способными переносить высокие температуры. Как правило, термофильные микроводоросли способны расти в диапазоне температур от 40 до 60 °C [82, 83]. При этом существуют термофильные виды, растущие при температурах от 40 до 90 °C [82]. Так, например, штамм *Thermosynechococcus elongatus* PKUACSTE542 обладает высокой удельной скоростью роста при температуре 55 °C и концентрации CO_2 15% [78]. В другом исследовании было обнаружено, что термофильный вид цианобактерий *Chlorogleopsis sp.* (или SC2) может достигать максимальной скорости роста при температуре 50 °C и концентрации CO_2 5%. Термофильная цианобактерия *T. elongates* TA-1 способна расти в условиях 10% и 20%-ной концентрации CO_2 при температуре 50 °C. Кроме того, данный штамм может расти в более широком диапазоне темпера-

тур (4–60 °C). Некоторые другие термофильные виды микроводорослей, такие как *Scenedesmus* sp., *Planktolyngbya crassa*, *Limnothrix redekei*, *Geitlerinema sulphureum* и *Chroococcus* sp., выделенные из горячих источников западных штатов в Индии, обладают высокой адаптируемостью к температуре и устойчивостью к высокой концентрации CO₂, так как растут при 42 °C и содержании газа 28% [78, 82,83].

Известно, что температура ниже 16 °C замедляет рост микроводорослей [72]. Тем не менее описаны штаммы, способные расти при температуре 15 °C, например, микроводоросли *Coccomyxa simplex* класса *Trebouxiophyceae* с горных скал Японии. Культуры *C. simplex* KGU-H002 и KGU-H004 имеют потенциальное применение в производстве биодизельного топлива при низкой температуре и низкой интенсивности света [77]. В целом поиск и адаптация к биотехнологическому применению микроводорослей, способных выдерживать низкие температуры, являются многообещающим и малоразработанным направлением исследований.

4.5. Интенсивность и режим освещения. Оптимальные значения интенсивности света, при которых наблюдается максимальная скорость роста для различных таксономических групп и видов водорослей, находятся в диапазоне 26–400 мкмоль фотонов/м²·с [49]. Скорость роста микроводорослей увеличивается по мере возрастания интенсивности света до достижения светонасыщения [84].

Цикл свет/темнота может сильно влиять на секвестрацию CO₂. Установлено, что слишком длинные или слишком короткие световые циклы вызывают ингибирование роста клеток, что приводит к значительному снижению их плотности, а также содержания хлорофилла и белка, что свидетельствует о важности оптимизированного светового цикла для метаболизма и роста водорослей [85]. Оптимальные периоды свет/темнота обычно составляют от 12/12 до 16/8 ч. Периоды свет/темнота важны, поскольку фотоиндуцированные повреждения, вызванные интенсивным освещением и избыточным потоком фотонов, могут быть устранены в темный период. Рост микроводорослей можно улучшить за счет последовательного изменения интенсивности света. Освещенность следует регулировать в зависимости от плотности культуры. При более низкой плотности культуры высокая интенсивность света может вызвать фотоингибирование, а при высокой проникновение света ограничено (увеличение темных объемов). Таким образом, интенсивность подаваемого света должна постепенно увеличиваться с ростом плотности культуры [86].

4.6. Отсутствие токсичных компонентов. Дымовые газы обычно содержат 9.5–16.5% CO₂, 2–6.5% O₂, 100–300 ppm (0.01–0.03%) NO_x, 280–320 ppm (0.028–0.032%) SO_x, тяжелые металлы и твердые частицы. Следует принимать во внимание, что наличие примесей потенциально может ингибировать рост микроводорослей.

Влияние SO₂. Присутствие SO₂ оказывает сильное ингибирующее действие на рост микроводорослей. Поэтому с увеличением концентрации SO₂ ингибирующий эффект может усиливаться, что приводит к резкому снижению фиксации углерода. Некоторые виды микроводорослей все же могут расти в условиях высокой концентрации SO₂, но в этом случае они имеют более длительную лаг-фазу, чем в отсутствие SO₂. Ингибирующее действие SO₂ объясняется в основном

влиянием pH, в частности его снижением при растворении SO_2 в культуральной среде, что изменяет процесс нормального концентрирования углерода и может приводить к прекращению роста клеток микроводорослей по достижении $\text{pH} < 3.0$ [72]. Другие исследования показывают, что подавляющее действие SO_2 на микроводоросли связано также с образованием в среде SO_4^{2-} и HSO_4^- , которые ингибируют рост микроводорослей. Когда концентрация SO_2 превышает 100 ppm, рост большинства микроводорослей практически невозможен [87]. Однако микроводоросли могут демонстрировать более высокую устойчивость к SO_2 , если поддерживать $\text{pH} \approx 7$ [72].

Влияние NO_x . NO_x является еще одним эффективным фактором фиксации CO_2 микроводорослями. NO_2 и NO обычно содержатся в промышленных дымовых газах в диапазоне 5–10% и 90–95% соответственно [72].

В отличие от водорастворимого SO_2 , который приводит к значительному снижению pH в культуральной среде, NO не влияет на рост микроводорослей за счет pH [37]. Ключевую роль здесь играет концентрация, которая обычно оказывает двустороннее влияние на рост микроводорослей в зависимости от их вида. С одной стороны, NO и NO_2 в крайне низких концентрациях могут поглощаться культуральной средой, превращаясь в NO_2^- и NO_3^- , и служить источником азотного питания микроводорослей [75]. С другой стороны, повышенная концентрация NO (выше 300 ppm) приводит к снижению скорости роста большинства видов микроводорослей [88].

5. Полезный продукт

Микроводоросли могут использоваться как источник биомассы, а также для получения продуктов их синтеза и метаболитов (белки, липиды, витамины и др.), которые могут применяться в фармацевтике, косметологии, производстве кормов для животных, биотоплива, биоудобрений и биополимеров как в неизменном, так и в переработанном виде [89].

5.1. Биомасса микроводорослей как корм для скота, домашних животных и аквакультуры. Биомасса микроводорослей содержит широкий спектр высококачественных соединений, включая углеводы, липиды и белки, а также витамины (A, B₁, B₂, B₆, B₁₂, C и E), антиоксиданты и минералы, что повышает ценность использования биомассы в качестве источников пищи для аквакультуры или животных [90–92]. Кроме того, микроводоросли, особенно морские, содержат калий, железо, магний, кальций и иод. Все эти вещества являются необходимыми добавками к рациону скота.

Как показали различные исследования, белки из водорослей имеют полный профиль незаменимых аминокислот, которые необходимы в составе корма домашнего скота [93]. Наиболее часто в качестве кормовых культур для животноводства используются такие виды микроводорослей, как *Porphyridium* sp., *Schizochytrium* sp., *Aurantiochytrium limacinum*, *Desmodesmus* sp., *Spirulina* sp., *Cryptonemia crenulata*, *Hyphnea cervicornis*, *Dunaliella salina*. Водоросли рода *Arthrospira* показали свою эффективность в качестве кормовой добавки для многих видов животных: кошек, собак, аквариумных рыб, декоративных птиц, лошадей, коров и племенных быков [92]. Микроводоросли применяют в качестве коммерческого корма для многих морских и пресноводных видов животных (личинки, рыбы и молодые

моллюски) [94], а также для разведения зоопланктона, необходимого в качестве живого корма для молоди ракообразных и рыб. Наиболее часто используемыми родами микроводорослей в аквакультуре являются *Spirulina*, *Isochrysis*, *Chaetoceros*, *Chlorella*, *Nannochloropsis*, *Tetraselmis*, *Thalassiosira* и *Skeletonema*. *Spirulina* имеет высокое содержание пигмента и широко используется в кормах для аквакультуры, особенно для тропических рыб [95].

5.2. Биомасса микроводорослей как источник питания для человека. В настоящее время коммерчески доступны различные формы микроводорослей (таблетки, капсулы и жидкость) в качестве добавок к основному рациону человека. Микроводоросли также могут быть включены в пасту, закуски, шоколадные батончики, жевательную резинку и напитки [96]. Зачастую микроводоросли добавляют в популярные продукты питания, такие как макароны, лапша, печенье, мороженое, леденцы из соевого творога и хлеб, для повышения питательной ценности и полезных свойств этих продуктов. Кроме того, микроводоросли являются источником натуральных пищевых красителей [97].

Штаммы микроводорослей, биомасса которых наиболее часто используется при производстве продуктов питания для человека, – это *Chlorella*, *Dunaliella*, *Haematococcus*, *Schizochytrium* и *Spirulina* [92]. Во многих странах мира штамм *Chlorella* получил распространение в качестве заменителя пищи [98, 99].

5.3. Биомасса микроводорослей как сырье для биоудобрений и модификаторов почвы. В современном сельском хозяйстве микроводоросли являются экологически безопасным вариантом замены химических удобрений [100, 101].

Микроводоросли в качестве биоудобрений улучшают развитие корневой системы растений, увеличивают биомассу проростков и высоту растений, а также обогащают почву азотом, фосфором, калием и значительным количеством микроэлементов [102, 103]. Кроме того, вырабатываемые микроводорослями ауксин, цитокинин и жасмоновая кислота являются гормонами роста растений, которые действуют как биостимуляторы [101]. Для этих целей хорошо зарекомендовали себя *C. vulgaris*, *S. platensis*, *Chlorella* sp., *Spirulina* sp., *Scenedesmus* sp., *Acutodesmus dimorphus*, *Synechocystis*, *Asterarcys quadricellulare* [104].

Биомасса микроводорослей легко минерализуется в почве и обеспечивает ее питательными веществами быстрее, чем другие органические удобрения. Поэтому биомасса микроводорослей выступает эффективным модификатором почвы [105].

Штаммы микроводорослей способны накапливать большое количество азота и фосфора в биомассе, используя питательные вещества из сточных вод. Кроме того, посредством биоминерализации фосфор в неорганических формах (например, полифосфат) или органические соединения фосфора могут превращаться в биодоступный фосфор. Таким образом, микроводоросли могут культивироваться в богатых питательными веществами сточных водах и использоваться не только в качестве простого и экологически чистого источника биоудобрений для сельскохозяйственных культур, но и для очистки сточных вод, если содержание тяжелых металлов и органических загрязнителей в их биомассе не превышает нормативов, регламентирующих качество органических удобрений [106]. Внесение биоудобрений на основе биомассы микроводорослей в почву для рециркуляции питательных веществ из сточных вод может увеличить

концентрацию азота и фосфора, а также микроэлементов, необходимых растениям (например, К, Са, Fe и т. д.). Более высокие концентрации этих питательных веществ улучшают плодородие почвы и будут способствовать росту растений. Для этого используют микроводоросли *Monoraphidium* sp., *Neochloris* sp., *Scenedesmus* sp., *Dictyosphaerium* sp., *Chlorella* sp. + *Scenedesmus* sp., *C. pyrenoidosa*, *C. sorokiniana* [104].

5.4. Микроводоросли как источник полезных компонентов. Биологически активные соединения (метаболиты), получаемые из микроводорослей, разнообразны, и их можно разделить на первичные и вторичные. Первичные метаболиты – это необходимые для выживания микроорганизмов соединения, к которым относят белки (5–74% по содержанию в биомассе), липиды (7–65% по содержанию в биомассе), углеводы (8–69% по содержанию в биомассе). Поскольку первичные метаболиты вырабатываются в значительных количествах в клетке, их называют также макрокомпонентами. Вторичные метаболиты (микрокомпоненты) представляют собой относящиеся к физиологическим системам функциональные соединения, среди которых выделяют витамины, каротиноиды, фикобилипротеины, фитостеролы, фенольные соединения [107, 108].

5.4.1. Макрокомпоненты (первичные метаболиты). Микроводоросли содержат большее количество белка по сравнению с другими растительными источниками. Содержание сырого протеина в биомассе микроводорослей колеблется от 30 до 80% масс. (51–58% – в *Chlorella vulgaris*, 60–71% – в *Arthrospira (Spirulina) platensis*, 31–46% – в *Tetraselmis chui*, 35–44% – в *Nannochloropsis oceanica*, 50–80% – в *D. salina*, 62% – в *Galdieria sulphuraria*). При этом, как и все растения, микроводоросли могут синтезировать многие необходимые аминокислоты. Содержание белка и аминокислотный профиль микроводорослей зависят как от характеристик конкретного вида, так и от условий его культивирования. Следует также отметить, что белки микроводорослей являются источником биоактивных пептидов, которые не только обладают питательными свойствами, но и проявляют антиоксидантные, антигипертензивные, противоопухолевые и иммуномодулирующие свойства. К таким соединениям относят, например, фикоцианин и билипротеин. Некоторые белки, продуцируемые *C. vulgaris*, *C. ellipsoidea* и *Palmaria palmata*, тесно связаны с белками незаменимых пептидов – антиоксидантов. В целом большинство пептидов с антиоксидантными и антигипертензивными свойствами получают из *Chlorella* sp. [109–117].

Липиды являются наиболее изученными соединениями, извлекаемыми из микроводорослей, с самым высоким потенциалом для масштабирования и коммерциализации [89]. Содержание липидов в микроводорослях составляет от 20 до 50%, а в отдельных случаях и больше. В некоторых специфических условиях культивирования, например, в среде с высоким содержанием углерода и азота или в условиях стресса, водоросли способны накапливать многие липиды [118]. Выбор штамма играет важную роль для получения липидов из микроводорослей. Так, высокопродуктивными являются виды *Pavlova salina* (29% липидов от сухой массы), *Phaeodactylum tricornutum* (41%), *Scenedesmus obliquus* (50%), *Nannochloropsis* sp. (61%). Изучено содержание липидов в некоторых других штаммах микроводорослей, например, в *C. pyrenoidosa* (2%),

D. salina (6%), *Scendesmus subspicatus* (16%), *C. luteoviridis* (22%), *C. sorokiniana* (22%), *Parachlorella kessleri* (25%), *Haematococcus pluvialis* (26%), *Botryococcus braunii* (33%) [29].

Липиды включают резервные и структурные фракции, входящие в состав мембран. Первые, состоящие в основном из насыщенных и мононенасыщенных жирных кислот, используются для получения биодизеля, вторые (полиненасыщенные жирные кислоты) – в нутрицевтиках, косметике, а также в качестве био-добавок при производстве продуктов питания и кормов для животных [89].

Полиненасыщенные жирные кислоты представляют собой ценные соединения на рынке здоровой пищи. Они состоят из трех или более двойных связей в скелетной цепи жирной кислоты, содержащей 18 или более атомов углерода. Особый коммерческий интерес представляют полиненасыщенные жирные кислоты, производимые микроводорослями, в частности омега-3 кислоты (эйкозапентаеновая (20:5), докозагексаеновая (22:6) и линоленовая) [89], а также линолевая кислота, относящаяся к группе омега-6 кислот. Интересно отметить, что рыба, являющаяся традиционным источником омега-3 и омега-6 жирных кислот, получает их из переваренных микроводорослей [118]. Согласно литературным данным, содержание эйкозапентаеновой и докозагексаеновой кислот у микроводорослей вида *Chlorella* может достигать 3.2% и 8.9% соответственно [29]. Содержание докозагексаеновой кислоты у разных видов микроводорослей составляет 277 мг/г биомассы *Schizochytrium* sp., 170 мг/г биомассы *Cryptocodinium cohnii*, 175 мг/г биомассы *Aurantiochytrium* sp., 170 мг/г биомассы *Schizochytrium limacinum*, 100 мг/г биомассы *Schizochytrium* sp., а содержание эйкозапентаеновой кислоты – 37 мг/г биомассы *C. minutissima*, 16.6 мг/г биомассы *Navicula saprophila*, 22 мг/г биомассы *P. tricornutum*, 35–43 мг/г биомассы *Monodus subterraneus*, и 26 мг/г биомассы *Nitzschia laevis* [118].

Углеводы представляют собой сложные органические соединения, образующиеся внутри хлоропластов в результате фотосинтеза. Углеводы микроводорослей в основном состоят из крахмала, глюкозы, целлюлозы/гемицеллюлозы и различных полисахаридов. В состав последних входят моносахариды фруктоза, галактоза, глюкоза, манноза и ксилоза в различных соотношениях. В настоящее время полисахариды водорослей представляют собой класс ценных соединений, применяемых в производстве продуктов питания, косметики, текстильных изделий, а также в составе стабилизаторов, эмульгаторов, смазочных материалов, загустителей и лекарственных средств. В частности, сульфатированные полисахариды (например, фукоидан, каррагинаны и агараны), благодаря своим уникальным свойствам, перспективны для использования в медицине. Другое активно развиваемое направление практического применения продуцируемых микроводорослями полисахаридов (крахмал, целлюлоза, гликоген, пуллулан, гуммиарабик, хитин) – производство биополимеров на их основе [29, 118–122].

Штаммы микроводорослей, из которых могут быть извлечены различные углеводы, – *C. vulgaris*, *S. quadricauda*, *Porphyridium* sp., *Haematococcus lacustris*, *Rhodella reticulata*, *C. stigmatophora*, *P. tricornutum* [118].

5.4.2. Микрокомпоненты (вторичные метаболиты). Микроводоросли являются источниками витаминов, что представляет интерес для нутрицев-

тической промышленности. Микроводоросли производят и накапливают широкий круг витаминов (А, С, D, E, витамины группы В, включая инозитол и фолиевую кислоту, а также биотин) [117, 118]. Однако содержание некоторых витаминов в микроводорослях снижается во время сушки и последующей обработки, что несколько ограничивает использование витаминов микроводорослей. Как правило, витамины В₁, В₂ и С, а также никотиновая кислота чувствительны к нагреванию и их концентрация быстро снижается в процессе сушки.

Высшие растения обычно не производят витамин В₁₂, тогда как некоторые микроводоросли могут его накапливать. Например, с точки зрения путей биосинтеза эволюционная связь с бактериями видов *Spirulina* позволяет последним синтезировать витамин В₁₂ в высоких концентрациях [107].

Взаимосвязь между оптимальными условиями роста и производством витаминов заметно отличается у каждого вида. По результатам нескольких исследовательских работ выявлено, что виды *Chlorella* и *Dunaliella* содержат в составе своей биомассы такие витамины, как А, В₁, С и Е [29].

Микроводоросли также являются источниками пигментов, представляющих коммерческий интерес. Основные классы фотосинтетических пигментов, присутствующих в водорослях, – это хлорофиллы, каротиноиды и фикобилины [123]. Кроме того, у некоторых видов имеются солнцезащитные пигменты.

Хлорофиллы представляют собой зеленоватые пигменты, которые находятся в пластинках хлоропластов. Зеленые микроводоросли характеризуются самым высоким содержанием хлорофилла. Среди всех видов микроводорослей вид *Chlorella* является удобным источником коммерческого получения хлорофилла [124].

Каротиноиды – жирорастворимые желтые, оранжевые или красные пигменты. Это тетратерпеноиды, присутствующие в большинстве фотосинтезирующих организмов и содержащие в своей структуре 40 атомов углерода в виде субъединиц изопрена [89, 118]. Каротиноиды нерастворимы в воде и обычно прикреплены к мембранам внутри клеток [125]. Каротиноиды применяются в фармацевтической, косметической и медицинской промышленности, а также в составе кормов, поскольку представляют собой натуральные и более полезные пигменты, чем химически синтезированные, и обладают антиоксидантными свойствами [89]. Среди каротиноидов, продуцируемых микроводорослями, наибольший коммерческий интерес представляют β-каротин, лютеин и астаксантин [29]. Основными источниками каротиноидов являются микроводоросли, относящиеся к классу *Chlorophyceae* [126]. Наиболее изученными по содержанию каротиноидов считаются *C. vulgaris*, *S. platensis*, *H. pluvialis* и *D. salina*. В основном β-каротин производится из *D. salina*, для получения астаксантина используют *H. pluvialis*, а для производства лютеина – *Murielopsis* sp. и *S. Almeriensis* [89].

Фикобилины представляют собой фотосинтетические вспомогательные пигменты. В отличие от липофильных каротиноидов, фикобилипротеины растворимы в воде. Эти молекулы имеют насыщенный красный или синий цвет и содержат белок. Основными соединениями этой группы пигментов являются фикоцианин и фикоэритрин, которые можно использовать в качестве натуральных пигментов

в продуктах питания, лекарственных средствах и косметике вместо искусственных пигментов, некоторые из которых могут проявлять канцерогенные свойства. Фикобилины продуцируются *Spirulina* sp., а также красными микроводорослями, такими как *Porphyridium* sp., *Rhodella* sp. и *Bangia* sp. [127–129].

Микроводоросли содержат натуральные пигменты, которые можно использовать в продуктах по уходу за кожей для защиты от солнца и в других целях. Эти солнцезащитные пигменты (вторичные метаболиты) являются многофункциональными микоспорин-подобными аминокислотами, которые можно экстрагировать из микроводорослей, населяющих морские экосистемы с высоким воздействием солнечного света. Существует возможность производить их в промышленных масштабах [120]. Другой часто встречающийся природный солнцезащитный материал – сцитонемин. Это пигмент, окрашивающий клетки в желтовато-коричневый цвет, расположенный в слизистой оболочке, окружающей клетки многочисленных видов цианобактерий, которые продуцируют внеклеточные полисахариды. Сцитонемин в основном извлекается из *Scytonema* sp. и *Nostoc* sp. [130].

Фитостеролы – это вещества, относящиеся к липидной группе, но являющиеся вторичными метаболитами микроводорослей. Они широко используются в фармацевтической промышленности для снижения уровня холестерина, а также в составе противовоспалительных, антиоксидантных и противораковых средств [29]. Есть четыре вида фитостеролов, которые могут быть выделены из микроводорослей и представляют коммерческий интерес. К ним относятся кампестерол (24- α -метилхолестерин), β -ситостерол (24- α -этилхолестерин), стигмастерол (Δ 22,24- α -этилхолестерол) и брассикастерол (24-метилхолест-5,22-диен-3 β -ол) [131]. Их можно выделить из штаммов *Amphora* sp., *Navicula* sp., *Nitzschia* sp., *P. tricornerutum*, *Skeletonema* sp., *Thalassiosira rotula*, *Thalassiosira stellaris*, *Chlorella* sp., *Chlamydomonas reinhardtii*, *Dunaliella* sp., *H. pluvialis*, *Tetraselmis* sp., *Nannochloropsis salina*, *Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis* sp., *Pavlova viridis*, *Ochromonas danica*, *Porphyridium cruentum*, *Rhodomonas salina*, *Schyzochytrium aggregatum*, *Schyzochytrium* sp., *Anabaena solitaria*, *Nostoc carneum* [132].

5.5. Метаболиты микроводорослей как сырье для производства биотоплива и биополимеров. Как биомасса, так и метаболиты микроводорослей могут быть применены не только в исходном, но и в преобразованном виде. К получаемым в результате преобразования микроводорослей и их компонентов продуктам относят биотопливо (биодизель, биоэтанол, биометан, бионефть, биоводород) и биопластик (полигидроксисилканоаты и полисахариды).

Биотопливо на основе микроводорослей относится к топливу третьего поколения. Оно считается экологически безопасным и перспективным решением для удовлетворения спроса на энергию у будущих поколений [133]. Существует несколько способов преобразования биомассы микроводорослей в биоэнергию: биохимическая, термохимическая и химическая конверсия. К биохимическому способу относят анаэробное сбраживание, спиртовое брожение и биофотолиз. К методам термохимической конверсии относят газификацию, пиролиз, сжигание, сжижение и торрефикацию. В химической конверсии используют метод переэтерификации [134].

5.5.1. Биодизель – это многокомпонентное жидкое топливо, состоящее из метиловых или этиловых эфиров высших жирных кислот. Это биотопливо получают в процессе переэтерификации экстрагированных из микроводорослей липидов [95, 135, 136]. При этом протекает химическая реакция жирных кислот растительного происхождения со спиртом в присутствии катализатора с образованием глицерина и метиловых эфиров [137]. Процесс традиционной переэтерификации включает в себя разделение и очистку биомассы микроводорослей до переэтерификации. Очистка заключается в сушке, экстракции липидов и разрушении клеток [138]. Для получения биодизеля из микроводорослей используют ферментативный [139, 140], кислотный [141], гомогенный щелочной [142, 143] или гетерогенный катализ [144, 145] с использованием в качестве источников сырья микроводорослей *Aurantiochytrium* sp. [146], *B. braunii* [147], *Chlamydomonas* sp. [148], *Chlorella* sp. [149], *C. pyrenoidosa* [150], *C. vulgaris* [151], *Ettlia* sp., *N. oceanica*, *N. salina* [152], *Golenkinia* sp., *Nannochloropsis gaditana* [153], *N. oculata* [154], *Nannochloropsis* sp. [155].

5.5.2. Биоэтанол (биоспирт) представляет собой этиловый спирт, который получают из растительного сырья путем ферментации. В составе биомассы микроводорослей присутствуют различные углеводы (целлюлоза, агар, крахмал, ламинарин и маннит), которые используются для производства биоспирта [156]. Биоэтанол насыщен кислородом (35% по массе), что позволяет использовать его в качестве автомобильного топлива и снизить количество образующихся выбросов [95]. Выход биоэтанола, получаемого из микроводорослей, почти в два раза выше, чем таковой из сахарного тростника, и в пять раз выше, чем из кукурузы [157].

Производство биоэтанола из микроводорослей включает в себя ряд этапов [158]: отбор и культивирование биомассы водорослей, предварительную обработку, сжижение, осахаривание, анаэробную ферментацию и дистилляцию для очистки биоэтанола. В анаэробных условиях углеводы сначала восстанавливаются до простых сахаров с помощью химического или ферментативного процесса, а затем эти сахара превращаются в биоэтанол [73]. Основная функция ферментов заключается в преобразовании компонентов крахмала биомассы в сахара [134].

Микроводоросли, относящиеся к родам *Scenedesmus*, *Dunaliella*, *Chlorella*, *Chlamydomonas* и *Spirulina*, производят значительное количество крахмала и гликогена (более 50% их сухого веса), что делает их пригодными для использования в качестве сырья для производства биоэтанола [159]. Также отмечается, что биомасса микроводорослей *Chlorococcum* spp. и *C. vulgaris* эффективно преобразуется в биоэтанол в процессе ферментации [95].

5.5.3. Бионефть представляет собой сырую темную вязкую жидкость с высоким содержанием альдегидов, крезолов и кислот [160]. Она может быть получена из биомассы микроводорослей с помощью пиролиза (бескислородное термическое разложение) и гидротермального сжижения (разложение под действием высокого давления в присутствии воды).

Основные химические соединения в составе бионефти, полученной в результате пиролиза, – это ароматические соединения, углеводороды, жирные кислоты, нитрогенаты, амиды и другие оксигенаты [161]. Для производства бионефти обычно используют быстрый пиролиз – нагревание биомассы до температуры 500 °С при высокой скорости нагрева и малой длительности процесса (секунды

или миллисекунды), поскольку выход жидкой фракции в таком случае выше, чем для метода медленного пиролиза [162]. При получении бионефти путем пиролиза используют микроводоросли *C. protothecoides*, *M. aeruginosa*, *Chlorella* sp., *C. vulgaris*, *S. obliquus*, *Desmodesmus* sp., *Nannochloropsis*, *Halumphora coffeaeformis*, *Nannochloropsis gaditana*, *Scenedesmus almeriensis*, *C. sorokiniana* [95].

Гидротермальное сжижение представляет собой термохимический процесс, в котором воздействие горячей воды под давлением обеспечивает преобразование влажной биомассы микроводорослей в жидкое топливо. Такой способ получения бионефти привлекателен тем, что не требует предварительной сушки биомассы. Сжижение обычно проводят при температуре от 300 до 350 °С и давлении от 5 до 20 МПа при массовой доле микроводорослей в исходной суспензии от 5 до 50% [95]. Давление поддерживают на высоком уровне, чтобы вода оставалась в жидкой фазе, а температуру реакции обычно поддерживают в течение 5–60 мин. Для ускорения процесса сжижения используют катализаторы. После окончания процесса полученную бионефть экстрагируют растворителем и очищают [163]. Наряду с бионефтью в процессе гидротермального сжижения также образуются водная фаза, содержащая некоторые остаточные питательные вещества из культуры микроводорослей, твердая фракция, состоящая в основном из золы и следов водорода, азота и серы, и газовая фаза с легкими газами (CO₂, CO, H₂, CH₄) и небольшим количеством этилена и/или этана [164]. Для получения бионефти путем гидротермального сжижения используют микроводоросли *C. vulgaris*, *Desmodesmus* sp., *Spirulina*, *Chlorella* sp., *C. pyrenoidosa*, *C. sorokiniana*, *Echinacea* spp., *Coelastrum* sp. и *N. Chlorella* [95].

5.5.4. Биометан (биогаз) – это смесь газов, получаемая в результате анаэробного сбраживания и состоящая преимущественно из метана (60–70%) и примесей углекислого газа, паров воды, аммиака, сероводорода, водорода и других восстановленных соединений [165]. Биомасса микроводорослей является многообещающим сырьем для производства биогаза в процессе анаэробного сбраживания, поскольку содержит относительно небольшое количество лигнина и целлюлозы, характеризующихся низкой биоразлагаемостью. В качестве сырья могут использоваться как необработанные микроводоросли, так и остатки микроводорослей после экстракции из них липидов. Для эффективного процесса сбраживания микроводоросли подвергают предварительной биологической, механической, химической и термической обработке для разрушения клеток [166, 167]. Продуктом сбраживания помимо биогаза является дигестат (жидкий остаток с высоким содержанием органических компонентов), который может быть использован в качестве биоудобрения [165]. В исследованиях, посвященных производству биометана, упоминаются такие микроводоросли, как *P. cruentum*, *C. vulgaris*, *H. pluvialis*, *C. pyrenoidosa*, *Chlorella* sp., *C. vulgaris*, *S. obliquus*, *Scenedesmus* sp., *Nannochloropsis limnetica* [95].

5.5.5. Биеводород представляет собой газообразное топливо, не содержащее углерод, которое может быть получено путем трансформации растительной биомассы, например, биомассы микроводорослей. По сравнению с термохимическими методами производство водорода с помощью биологических процессов более экологично, требует меньшего количества энергии и может осуществляться в естественных условиях [168]. В природе различные группы

микроорганизмов способны генерировать молекулярный водород (биоводород) посредством биофотоллиза, фотоферментации, фотокатаболизма и анаэробного брожения. Зеленые микроводоросли наиболее эффективно производят биоводород путем фотоферментации с использованием света и воды. К сожалению, этот метод производства водорода является малоэффективным, поскольку выделяющийся кислород ингибирует ферменты, катализирующие синтез водорода. Более эффективным способом получения водорода с помощью микроводорослей является анаэробное брожение, которое осуществляют симбионтные микроорганизмы, колонизирующие компартменты с дефицитом кислорода в толще биомассы микроводорослей.

Наиболее распространенные виды микроводорослей, которые используются при производстве биоводорода, – это *D. salina*, *A. platensis*, *S. obliquus*, *C. kessleri*, *Chroococcus* sp., *C. pyrenoidosa*, *C. minutissima*, *Acutodesmus obliquus*, *C. reinhardtii*, *S. platensis*, *C. vulgaris*, *P. kessleri*, *G. sulphuraria*, *Enterobacter aerogenes*, *Chlamydomonas* sp., *S. obliquus*, *Anabaena* sp. [95, 102, 169].

5.5.6. Биополимеры представляют собой полимеры, которые получают на основе биологического сырья [89], одним из примеров которого является биомасса микроводорослей. К наиболее изученным полимерам, синтезируемым микроводорослями, относят полигидроксиалканоаты и полисахариды. Эти полимеры можно использовать при производстве упаковочных материалов и в медицине, поскольку они, проявляя сходные свойства, выступают в качестве экологичной альтернативы нефтехимическим полимерам [122].

Полигидроксиалканоаты представляют собой сложные полиэфиры гидроксиалканоатов, продуцируемые микроводорослями и рядом бактерий в качестве внутриклеточного источника углерода из сахара и/или липидов [170] и содержащие углеродную цепь, связанную с R-группой, и два атома кислорода [171, 172]. Показано, что содержание полигидроксиалканоатов в микроводорослях может быть увеличено за счет теплового стресса или ограничения питательных веществ, например, соединений фосфора и азота. Полимеры на основе полигидроксиалканоатов безопасны для окружающей среды, так как полностью биоразлагаемы [173]. Кроме того, полигидроксиалканоаты нетоксичны, обладают высокой устойчивостью к ультрафиолетовому излучению и гидролитическому разложению [122]. Первой промышленной корпорацией, начавшей освоение промышленного производства полигидроксиалканоатов, стала ICI в Великобритании. Компании Zeneka Seeds и Zeneka Bio Product с 1992 г. приступили к выпуску поли-3-гидроксibuтирата и сополимеров 3-гидроксibuтирата с 3-гидроксивалератом (товарное название продукта – Biopol®). Лидером в области коммерциализации полигидроксиалканоатов является компания Metabolix Inc., выпускающая полимеры под торговыми марками Biopol®, BiopolTM. В России ведущим коллективом, разрабатывающим технологии синтеза полигидроксиалканоатов на различных субстратах, является Институт биофизики СО РАН (г. Красноярск), в котором в 2005 г. создано первое опытное производство биопластотана.

Полисахариды, также как и полигидроксиалканоаты, биоразлагаемы и более устойчивы к разрушению по сравнению с синтетическими полимерами. На сегодняшний день хорошо изучены основные структуры полисахаридов, обнаруженных в микроводорослях, и их основные мономеры. Наиболее распростра-

ненными составляющими этих макромолекул являются D-глюкоза, D-фруктоза, D-галактоза, D-манноза, L-арабиноза и D-ксилоза. Чаще всего в производстве биопластика применяют полисахариды на основе глюкозы и крахмала [174].

Необходимо учитывать, что условия для продуцирования рассматриваемых полимеров у различных видов микроводорослей отличаются. К видам микроводорослей, обладающих потенциалом для извлечения биополимеров, относят *Nannochloropsis* sp., *B. braunii*, *Spirulina* sp, *Chlorella* sp. Для получения полигидроксиалкананоатов обычно используют *Botryococcus braunii*, *Synechocystis salina*, *Synechococcus elongatus* и *Spirulina* sp. С целью получения крахмала для производства биополимеров изучены *Ankistrodesmus falcatus*, *C. reinhardtii*, *C. sorokiniana*, *C. variabilis*, *C. vulgaris*, *P. kessleri*, *Scenedesmus acutus*, *S. obliquus* и *Scenedesmus* sp. [89].

Заключение

Настоящий обзор демонстрирует высокий потенциал использования эукариотических микроводорослей и цианобактерий для секвестрации углекислого газа из промышленных выбросов, а также возможности получения полезных продуктов (биотопливо, биоудобрения, биополимеры, продукты питания, корм для домашних и сельскохозяйственных животных) и ценных соединений биомассы микроводорослей (витамины, пигменты, фитостеролы).

Благодарности. Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной в рамках государственной поддержки Казанского (Приволжского) федерального университета в целях повышения его конкурентоспособности среди ведущих мировых научно-образовательных центров.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Canadell J.G., Kirschbaum M.U.F., Kurz W.A., Sanz M.-J., Schlamadinger B., Yamagata Y. Factoring out natural and indirect human effects on terrestrial carbon sources and sinks // Environ. Sci. Policy. 2007. V. 10, No 4. P. 370–384. <https://doi.org/10.1016/j.envsci.2007.01.009>.
2. FY 2017 Agency Financial Report. Ver. 15.11. URL: <https://www.epa.gov/planandbudget/fy-2017-agency-financial-report>.
3. Kumar M., Sundaram S., Gnansounou E., Larroche C., Thakur I.S. Carbon dioxide capture, storage and production of biofuel and biomaterials by bacteria: A review // Bioresour. Technol. 2018. V. 247. P. 1059–1068. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.050>.
4. Zhou W., Wang J., Chen P., Ji C., Kang Q., Lu B., Li K., Liu J., Ruan R. Bio-mitigation of carbon dioxide using microalgal systems: Advances and perspectives // Renewable Sustainable Energy Rev. 2017. V. 76. P. 1163–1175. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.03.065>.
5. Vaz S., Jr., de Souza A.P.R., Baeta B.E.L. Technologies for carbon dioxide capture: A review applied to energy sectors // Cleaner Eng. Technol. 2022. V. 8. Art. 100456. <https://doi.org/10.1016/j.clet.2022.100456>.
6. Paraschiv S., Paraschiv L.S. Trends of carbon dioxide (CO₂) emissions from fossil fuels combustion (coal, gas and oil) in the EU member states from 1960 to 2018 // Energy Rep. 2020. V. 6, No S8. P. 237–242. <https://doi.org/10.1016/j.egy.2020.11.116>.

7. Akbostancı E., Tunç G.I., Türüt-Aşık S. Drivers of fuel based carbon dioxide emissions: The case of Turkey // *Renewable Sustainable Energy Rev.* 2018. V. 81, Pt. 2. P. 2599–2608. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.06.066>.
8. Wang X., Yan L. Driving factors and decoupling analysis of fossil fuel related-carbon dioxide emissions in China // *Fuel.* 2022. V. 314. Art. 122869. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2021.122869>.
9. Singh P., Srivastava R. Utilization of bio-inspired catalyst for CO₂ reduction into green fuels: Recent advancement and future perspectives // *J. CO₂ Util.* 2021. V. 53. Art. 101748. <https://doi.org/10.1016/j.jcou.2021.101748>.
10. Becattini V., Gabrielli P., Antonini C., Campos J., Acquilino A., Sansavini G., Mazzotti M. Carbon dioxide capture, transport and storage supply chains: Optimal economic and environmental performance of infrastructure rollout // *Int. J. Greenhouse Gas Control.* 2022. V. 117. Art. 103635. <https://doi.org/10.1016/j.ijggc.2022.103635>.
11. Cheah W.Y., Ling T.C., Juan J.C., Lee D.-J., Chang J.-S., Show P.L. Biorefineries of carbon dioxide: From carbon capture and storage (CCS) to bioenergies production // *Bioresour. Technol.* 2016. V. 215. P. 346–356. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.04.019>.
12. Salih H.A., Pokhrel J., Reinalda D., AlNashf I., Khaleel M., Vega L.F., Karanikolos G.N., Zahra M.A. Hybrid–Slurry/Nanofluid systems as alternative to conventional chemical absorption for carbon dioxide capture: A review // *Int. J. Greenh. Gas Control.* 2021. V. 110. Art. 103415. <https://doi.org/10.1016/j.ijggc.2021.103415>.
13. Mukherjee A., Okolie J.A., Abdelrasoul A., Niu C., Dalai A.K. Review of post-combustion carbon dioxide capture technologies using activated carbon // *J. Environ. Sci.* 2019. V. 83. P. 46–63. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2019.03.014>.
14. Gür T.M. Carbon dioxide emissions, capture, storage and utilization: Review of materials, processes and technologies // *Prog. Energy Combust. Sci.* 2022. V. 89. Art. 100965. <https://doi.org/10.1016/j.peccs.2021.100965>.
15. Bhatia S.K., Bhatia R.K., Jeon J.-M., Kumar G., Yang Y.-H. Carbon dioxide capture and bioenergy production using biological system – a review // *Renewable Sustainable Energy Rev.* 2019. V. 110. P. 143–158. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.04.070>.
16. Aghaalipour E., Akbulut A., Güllü G. Carbon dioxide capture with microalgae species in continuous gas-supplied closed cultivation systems // *Biochem. Eng. J.* 2020. V. 163. Art. 107741. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2020.107741>.
17. Zahed M.A., Movahed E., Khodayari A., Zanganeh S., Badamaki M. Biotechnology for carbon capture and fixation: Critical review and future directions // *J. Environ. Manage.* 2021. V. 293. Art. 112830. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112830>.
18. Gayathri R., Mahboob S., Govindarajan M., Al-Ghanim K.A., Ahmed Z., Al-Mulhm N., Vodovnik M., Vijayalakshmi S. A review on biological carbon sequestration: A sustainable solution for a cleaner air environment, less pollution and lower health risks // *J. King Saud Univ., Sci.* 2021. V. 33, No 2. Art. 101282. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2020.101282>.
19. Onyeaka H., Miri T., Obileke K., Hart A., Anumudu C., Al-Sharify Z.T. Minimizing carbon footprint via microalgae as a biological capture // *Carbon Capture Sci. Technol.* 2021. V. 1. Art. 100007. <https://doi.org/10.1016/j.cst.2021.100007>.
20. Cheah W.Y., Show P.L., Chang J.-S., Ling T.C., Juan J.C. Biosequestration of atmospheric CO₂ and flue gas-containing CO₂ by microalgae // *Bioresour. Technol.* 2015. V. 184. P. 190–201. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.11.026>.
21. Kumar K., Dasgupta C.N., Nayak B., Lindblad P., Das D. Development of suitable photobioreactors for CO₂ sequestration addressing global warming using green algae and cyanobacteria // *Bioresour. Technol.* 2011. V. 102, No 8. P. 4945–4953. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.01.054>.

22. Wang B., Lan C.Q. 15 – Biofixation of carbon dioxide (CO₂) by microorganisms // Maroto-Valer M.M. (Ed.) Developments and Innovation in Carbon Dioxide (CO₂) Capture and Storage Technology. Cambridge: Woodhead Publ., 2010. V. 2. P. 411–432. <https://doi.org/10.1533/9781845699581.4.411>.
23. Senatore A., Lania I., Corrente G.A., Basile A. Chapter 18 – CO₂ capture by bacteria and their enzymes // Rahimpour M.R., Farsi M., Makarem M.A. (Eds.) Advances in Carbon Capture: Methods, Technologies and Applications. Cambridge: Woodhead Publ., 2020. P. 407–429. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819657-1.00018-9>.
24. Borrero-Santiago A.R., DelValls T.A., Riba I. Carbon capture and storage (CCS): Risk assessment focused on marine bacteria // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2016. V. 131. P. 157–163. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.04.020>.
25. Thakur I.S., Kumar M., Varjani S.J., Wu Y., Gnansounou E., Ravindran S. Sequestration and utilization of carbon dioxide by chemical and biological methods for biofuels and biomaterials by chemoautotrophs: Opportunities and challenges // Bioresour. Technol. 2018. V. 256. P. 478–490. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.02.039>.
26. Giordano M., Beardall J., Raven J.A. CO₂ concentrating mechanisms in algae: Mechanisms, environmental modulation, and evolution // Annu. Rev. Plant Biol. 2005. V. 56:1. P. 99–131. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.56.032604.144052>.
27. Wang B., Li Y.Q., Wu N., Lan C.Q. CO₂ bio-mitigation using microalgae // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2008. V. 79, No 5. P. 707–718. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1518-y>.
28. Cheng J., Huang Y., Feng J., Sun J., Zhou J., Cen K. Improving CO₂ fixation efficiency by optimizing *Chlorella* PY-ZU1 culture conditions in sequential bioreactors // Bioresour. Technol. 2013. V. 144. P. 321–327. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.06.122>.
29. Russell C., Rodriguez C., Yaseen M. High-value biochemical products & applications of freshwater eukaryotic microalgae // Sci. Total Environ. 2022. V. 809. Art. 151111. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151111>.
30. Yousuf A. Chapter 1 – Fundamentals of microalgae cultivation // Yousuf A. (Ed.) Microalgae Cultivation for Biofuels Production. Cambridge: Acad. Press, 2020. P. 1–9. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817536-1.00001-1>.
31. Al-Dulaimi O., Rateb M.E., Hursthouse A.S., Thomson G., Yaseen M. The brown seaweeds of Scotland, their importance and applications // Environments. 2021. V. 8, No 6. Art. 59. <https://doi.org/10.3390/environments8060059>.
32. Mobin S., Alam F. Some promising microalgal species for commercial applications: A review // Energy Procedia. 2017. V. 110. P. 510–517. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2017.03.177>.
33. Ефимов П.Г. Альгология и микология: учебное пособие. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2011. 120 с.
34. Белякова Г.А., Дьяков Ю.Т., Тарасов К.Л. Отдел охрофитовые водоросли (охрофиты) – *Ochrophyta* // Ботаника: учебник для студентов высших учебных заведений: в 4 т. М.: Академия, 2006. Т. 2. Водоросли и грибы. С. 50–138.
35. Schoch C.L., Ciufu S., Domrachev M., Hotton C.L., Kannan S., Khovanskaya R., Leipe D., McVeigh R., O'Neill K., Robbertse B., Sharma S., Soussov V., Sullivan J.P., Sun L., Turner S., Karsch-Mizrachi I. NCBI Taxonomy: A comprehensive update on curation, resources and tools // Database. 2020. V. 2020. P. 1–21. <https://doi.org/10.1093/database/baaa062>.
36. Sánchez-Baracaldo P., Bianchini G., Wilson J.D., Knoll A.H. Cyanobacteria and biogeochemical cycles through Earth history // Trends Microbiol. 2022. V. 30, No 2. P. 143–157. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2021.05.008>.
37. Дворецкий Д.С., Темнов М.С., Устинская Я.В., Еськова М.А. Перспективные биотехнологии микроводорослей: учебное пособие. Тамбов: Издательский центр ТГТУ, 2022. 128 с.

38. *Bhatt N.C., Panwar A., Bisht T.S., Tamta S.* Coupling of algal biofuel production with wastewater // *Sci. World J.* 2014. V. 2014. Art. 210504. <https://doi.org/10.1155/2014/210504>.
39. *Jiang L., Luo S., Fan X., Yang Z., Guo R.* Biomass and lipid production of marine microalgae using municipal wastewater and high concentration of CO₂ // *Appl. Energy.* 2011. V. 88, No 10. P. 3336–3341. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2011.03.043>.
40. *Saini R., Kapoor R., Kumar R., Siddiqi T.O., Kumar A.* CO₂ utilizing microbes – a comprehensive review // *Biotechnol. Adv.* 2011. V. 29, No 6. P. 949–960. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.08.009>.
41. *Yadav G., Dubey B.K., Sen R.* A comparative life cycle assessment of microalgal production by CO₂ sequestration from flue gas in outdoor raceway ponds under batch and semi-continuous regime // *J. Cleaner Prod.* 2020. V. 258. Art. 120703. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.120703>.
42. *Zhou W., Chen P., Min M., Ma X., Wang J., Griffith R., Hussain F., Peng P., Xie Q., Li Y., Shi J., Meng J., Ruan R.* Environment-enhancing algal biofuel production using wastewaters // *Renewable Sustainable Energy Rev.* 2014. V. 36. P. 256–269. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.04.073>.
43. *De Godos I., Mendoza J.L., Acien F.G., Molina E., Banks C.J., Heaven S., Rogalla F.* Evaluation of carbon dioxide mass transfer in raceway reactors for microalgal culture using flue gases // *Bioresour. Technol.* 2014. V. 153. P. 307–314. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.11.087>.
44. *Sfz S., Van Den Hende S., Taelman S.E., De Meester S., Dewulf J.* Environmental sustainability assessment of a microalgae raceway pond treating aquaculture wastewater: From up-scaling to system integration // *Bioresour. Technol.* 2015. V. 190. P. 321–331. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.04.088>.
45. *Carneiro M., Maia I. B., Cunha P., Guerra I., Magina T., Santos T., Schulze P.S.C., Pereira H., Malcata F.X., Navalho J., Silva J., Otero A., Varela J.* Effects of LED lighting on *Nannochloropsis oceanica* grown in outdoor raceway ponds // *Algal Res.* 2022. V. 64. Art. 102685. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102685>.
46. *Kiran B., Kumar R., Deshmukh D.* Perspectives of microalgal biofuels as a renewable source of energy // *Energy Convers. Manage.* 2014. V. 88. P. 1228–1244. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2014.06.022>.
47. *Faried M., Samer M., Abdelsalam E., Yousef R.S., Attia Y.A., Ali A.S.* Biodiesel production from microalgae: Processes, technologies and recent advancements // *Renewable Sustainable Energy Rev.* 2017. V. 79. P. 893–913. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.05.199>.
48. *Braga A., Mesquita D.P., Amaral A.L., Ferreira E.C., Belo I.* Aroma production by *Yarrowia lipolytica* in airlift and stirred tank bioreactors: differences in yeast metabolism and morphology // *Biochem. Eng. J.* 2015. V. 93. P. 55–62. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2014.09.006>.
49. *Maltsev Y., Maltseva K., Kulikovskiy M., Maltseva S.* Influence of light conditions on microalgal growth and content of lipids, carotenoids, and fatty acid composition // *Biology.* 2021. V. 10, No 10. Art. 1060. <https://doi.org/10.3390/biology10101060>.
50. *Duarte J.H., de Morais E.G., Radmann E.M., Costa J.A.V.* Biological CO₂ mitigation from coal power plant by *Chlorella fusca* and *Spirulina* sp. // *Bioresour. Technol.* 2017. V. 234. P. 472–475. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.03.066>.
51. *Yadav G., Karemore A., Dash S.K., Sen R.* Performance evaluation of a green process for microalgal CO₂ sequestration in closed photobioreactor using flue gas generated *in-situ* // *Bioresour. Technol.* 2015. V. 191. P. 399–406. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.04.040>.

52. *Chhandama M.V.L., Satyan K.B., Changmai B., Vanlalveni C., Rokhum S.L.* Microalgae as a feedstock for the production of biodiesel: A review // *Bioresour. Technol. Rep.* 2021. V. 15. Art. 100771. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2021.100771>.
53. *Ibn-Mohammed T., Greenough R., Taylor S., Ozawa-Meida L., Acquaye A.* Operational vs. embodied emissions in buildings – a review of current trends // *Energy Build.* 2013. V. 66. P. 232–245. <https://doi.org/10.1016/j.enbuild.2013.07.026>.
54. *Ho S.-H., Chen C.-Y., Lee D.-J., Chang J.-S.* Perspectives on microalgal CO₂-emission mitigation systems – a review // *Biotechnol. Adv.* 2011. V. 29, No 2. P. 189–198. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.11.001>.
55. *Trotta P.* A simple and inexpensive system for continuous monoxenic mass culture of marine microalgae // *Aquaculture.* 1981. V. 22. P. 383–387. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(81\)90165-4](https://doi.org/10.1016/0044-8486(81)90165-4).
56. *Aslam A., Thomas-Hall S.R., Mughal T.A., Schenk P.M.* Selection and adaptation of microalgae to growth in 100% unfiltered coal-fired flue gas // *Bioresour. Technol.* 2017. V. 233. P. 271–283. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.02.111>.
57. *Yaqoubnejad P., Rad H.A., Taghavijeloudar M.* Development a novel hexagonal airlift flat plate photobioreactor for the improvement of microalgae growth that simultaneously enhance CO₂ bio-fixation and wastewater treatment // *J. Environ. Manage.* 2021. V. 298. Art. 113482. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113482>.
58. *Khadim S.R., Singh P., Singh A.K., Tiwari A., Mohanta A., Asthana R.K.* Mass cultivation of *Dunaliella salina* in a flat plate photobioreactor and its effective harvesting // *Bioresour. Technol.* 2018. V. 270. P. 20–29. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.08.071>.
59. *Xiao R., Zheng Y.* Overview of microalgal extracellular polymeric substances (EPS) and their applications // *Biotechnol. Adv.* 2016. V. 34, No 7. P. 1225–1244. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2016.08.004>.
60. *Lam M.K., Lee K.T., Mohamed A.R.* Current status and challenges on microalgae-based carbon capture // *Int. J. Greenhouse Gas Control.* 2012. V. 10. P. 456–469. <https://doi.org/10.1016/j.ijggc.2012.07.010>.
61. *Abd Rahaman M.S., Cheng L.-H., Xu X.-H., Zhang L., Chen H.-L.* A review of carbon dioxide capture and utilization by membrane integrated microalgal cultivation processes // *Renew. Sust. Energ. Rev.* 2011. V. 15, No 8. P. 4002–4012. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2011.07.031>.
62. *Scholes C.A., Kentish S.E., Stevens G.W.* The effect of condensable minor components on the gas separation performance of polymeric membranes for carbon dioxide capture // *Energy Procedia.* 2009. V. 1, No 1. P. 311–317. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2009.01.043>.
63. *Mortezaeikia V., Yegani R., Tavakoli O.* Membrane-sparger vs. membrane contactor as a photobioreactors for carbon dioxide biofixation of *Synechococcus elongatus* in batch and semi-continuous mode // *J. CO₂ Util.* 2016. V. 16. P. 23–31. <https://doi.org/10.1016/j.jcou.2016.05.009>.
64. *Senatore V., Buonerba A., Zarra T., Oliva G., Belgiorno V., Boguniewicz-Zablocka J., Naddeo V.* Innovative membrane photobioreactor for sustainable CO₂ capture and utilization // *Chemosphere.* 2021. V. 273. Art. 129682. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129682>.
65. *Zhang D., Fung K.Y., Ng K.M.* Novel filtration photobioreactor for efficient biomass production // *Ind. Eng. Chem. Res.* 2014. V. 53, No 33. P. 12927–12934. <https://doi.org/10.1021/ie501913k>.
66. *Fulazzaky M.A., Talaiekhosani A., Ponraj M., Abd Majid M.Z., Hadibarata T., Goli A.* Biofiltration process as an ideal approach to remove pollutants from

- polluted air // *Desalin. Water Treat.* 2014. V. 52, No 19–21. P. 3600–3615. <https://doi.org/10.1080/19443994.2013.854102>.
67. Zhang Y., Liu J., Xing H., Li J. Performance and fungal diversity of bio-trickling filters packed with composite media of polydimethylsiloxane and foam ceramics for hydrophobic VOC removal // *Chemosphere.* 2020. V. 256. Art. 127093. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127093>.
68. Goli A., Shamiri A., Talaiekhazani A., Eshtiaghi N., Aghamohammadi N., Aroua M.K. An overview of biological processes and their potential for CO₂ capture // *J. Environ. Manage.* 2016. V. 183, Pt. 1. P. 41–58. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.08.054>.
69. Douskova I., Doucha J., Livansky K., Machat J., Novak P., Umysova D., Zachleder V., Vitova M. Simultaneous flue gas bioremediation and reduction of microalgal biomass production costs // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2009. V. 82. P. 179–185. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1811-9>.
70. Baba Y., Tanabe T., Shirai N., Watanabe T., Honda Y., Watanabe T. Pretreatment of Japanese cedar wood by white rot fungi and ethanolysis for bioethanol production // *Biomass Bioenergy.* 2011. V. 35, No 1. P. 320–324. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2010.08.040>.
71. Ramanan R., Kannan K., Deshkar A., Yadav R., Chakrabarti T. Enhanced algal CO₂ sequestration through calcite deposition by *Chlorella* sp. and *Spirulina platensis* in a mini-raceway pond // *Bioresour. Technol.* 2010. V. 101, No 8. P. 2616–2622. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.10.061>.
72. Zhao B., Su Y. Process effect of microalgal-carbon dioxide fixation and biomass production: A review // *Renewable Sustainable Energy Rev.* 2014. V. 31. P. 121–132. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2013.11.054>.
73. Ho S.-H., Huang S.-W., Chen C.-Y., Hasunuma T., Kondo A., Chang J.-S. Bioethanol production using carbohydrate-rich microalgae biomass as feedstock // *Bioresour. Technol.* 2013. V. 135. P. 191–198. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.015>.
74. Ho S.-H., Chang J.-S., Lai Y.-Y., Chen C.-N.N. Achieving high lipid productivity of a thermotolerant microalga *Desmodesmus* sp. F2 by optimizing environmental factors and nutrient conditions // *Bioresour. Technol.* 2014. V. 156. P. 108–116. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.01.017>.
75. Kumar A., Ergas S., Yuan X., Sahu A., Zhang Q., Dewulf J., Malcata F.X., van Langenhove H. Enhanced CO₂ fixation and biofuel production via microalgae: Recent developments and future directions // *Trends Biotechnol.* 2010. V. 28, No 7. P. 371–380. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2010.04.004>.
76. Verma R., Kumari K.V.L.K., Srivastava A., Kumar A. Photoautotrophic, mixotrophic, and heterotrophic culture media optimization for enhanced microalgae production // *J. Environ. Chem. Eng.* 2020. V. 8, No 5. Art. 104149. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104149>.
77. Aburai N., Nishida A., Abe K. Aerial microalgae *Coccomyxa simplex* isolated from a low-temperature, low-light environment, and its biofilm growth and lipid accumulation // *Algal Res.* 2021. V. 60. Art. 102522. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102522>.
78. Liang Y., Tang J., Luo Y., Kaczmarek M.B., Li X., Daroch M. *Thermosynechococcus* as a thermophilic photosynthetic microbial cell factory for CO₂ utilisation // *Bioresour. Technol.* 2019. V. 278. P. 255–265. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.01.089>.
79. Perez-Garcia O., Escalante F.M.E., De-Bashan L.E., Bashan Y. Heterotrophic cultures of microalgae: Metabolism and potential products // *Water Res.* 2011. V. 45, No 1. P. 11–36. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.08.037>.
80. Zeng X., Danquah M.K., Chen X.D., Lu Y. Microalgae bioengineering: From CO₂ fixation to biofuel production // *Renewable Sustainable Energy Rev.* 2011. V. 15, No 6. P. 3252–3260. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2011.04.014>.

81. *Cuaresma M., Garbayo I., Vega J.M., Vilchez C.* Growth and photosynthetic utilization of inorganic carbon of the microalga *Chlamydomonas acidophila* isolated from Tinto River // *Enzyme Microb. Technol.* 2006. V. 40, No. 1. P. 158–162. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2005.10.049>.
82. *Saini N., Pal K., Deepak B., Mona S.* Thermophilic algae: A new prospect towards environmental sustainability // *J. Cleaner Prod.* 2021. V. 324. Art. 129277. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.129277>.
83. *Ghozzi K., Zemez M., Dhiab R.B., Challouf R., Yahia A., Omrane H., Ouada H.B.* Screening of thermophilic microalgae and cyanobacteria from Tunisian geothermal sources // *J. Arid Environ.* 2013. V. 97. P. 14–17. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2013.05.004>.
84. *Carvalho A.P., Silva S.O., Baptista J.M., Malcata F.X.* Light requirements in microalgal photobioreactors: An overview of biophotonic aspects // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2011. V. 89, No 5. P. 1275–1288. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-3047-8>.
85. *Ma S., Zeng W., Huang Y., Zhu X., Xia A., Zhu X., Liao Q.* Revealing the synergistic effects of cells, pigments, and light spectra on light transfer during microalgae growth: A comprehensive light attenuation model // *Bioresour. Technol.* 2022. V. 348. Art. 126777. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.126777>.
86. *Pires J.C.M., Alvim-Ferraz M.C.M., Martins F.G., Simoes M.* Carbon dioxide capture from flue gases using microalgae: Engineering aspects and biorefinery concept // *Renewable Sustainable Energy Rev.* 2012. V. 16, No 5. P. 3043–3053. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2012.02.055>.
87. *Lee K.T., Bhatia S., Mohamed A.R.* Preparation and characterization of sorbents prepared from ash (waste material) for sulfur dioxide (SO₂) removal // *J. Mater. Cycles Waste Manage.* 2005. V. 7, No 1. P. 16–23. <https://doi.org/10.1007/s10163-004-0121-2>.
88. *Lee J.-S., Kim D.-K., Lee J.-P., Park S.-C., Koh J.-H., Cho H.-S., Kim S.-W.* Effects of SO₂ and NO on growth of *Chlorella* sp. KR-1 // *Bioresour. Technol.* 2002. V. 82, No 1. P. 1–4. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00158-4](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00158-4).
89. *Calijuri M.L., Silva T.A., Magalhaes I.B., Pereira A.S.A.D.P., Marangon B.B., de Assis L.R., Lorentz J.F.* Bioproducts from microalgae biomass: Technology, sustainability, challenges and opportunities // *Chemosphere.* 2022. V. 305. Art. 135508. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135508>.
90. *Dineshbabu G., Goswami G., Kumar R., Sinha A., Das D.* Microalgae–nutritious, sustainable aqua-and animal feed source // *J. Funct. Foods.* 2019. V. 62. Art. 103545. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103545>.
91. *Madeira M.S., Cardoso C., Lopes P.A., Coelho D., Afonso C., Bandarra N.M., Prates J.A.M.* Microalgae as feed ingredients for livestock production and meat quality: A review // *Livest. Sci.* 2017. V. 205. P. 111–121. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2017.09.020>.
92. *Kusmayadi A., Leong Y.K., Yen H.-W., Huang C.-Y., Chang J.-S.* Microalgae as sustainable food and feed sources for animals and humans – Biotechnological and environmental aspects // *Chemosphere.* 2021. V. 271. Art. 129800. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129800>.
93. *Liu R., Li S., Tu Y., Hao X., Qiu F.* Recovery of value-added products by mining microalgae // *J. Environ. Manage.* 2022. V. 307. Art. 114512. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.114512>.
94. *Sathasivam R., Radhakrishnan R., Hashem A., Abd Allah E.F.* Microalgae metabolites: A rich source for food and medicine // *Saudi J. Biol. Sci.* 2019. V. 26, No 4. P. 709–722. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.11.003>.
95. *Siddiki S.Y.A., Mofijur M., Kumar P.S., Ahmed S.F., Inayat A., Kusumo F., Badruddin I.A., Khan T.M.Y., Nghiem L.D., Ong H.C., Mahlia T.M.I.* Microalgae biomass as a sustainable

- source for biofuel, biochemical and biobased value-added products: An integrated biorefinery concept // *Fuel*. 2022. V. 307. Art. 121782. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2021.121782>.
96. *Ferreira de Oliveira A.P., Bragotto A.P.A.* Microalgae-based products: Food and public health // *Future Foods*. 2022. V. 6. Art. 100157. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2022.100157>.
97. *Spolaore P., Joannis-Cassan C., Duran E., Isambert A.* Commercial applications of microalgae // *J. Biosci. Bioeng.* 2006. V. 101, No 2. P. 87–96. <https://doi.org/10.1263/jbb.101.87>.
98. *Herrador M.* The Microalgae/Biomass Industry in Japan. An Assessment of Cooperation and Business Potential with European Companies // EU-Japan Centre for Industrial Cooperation. Minerva EU-Japan Fellowship. Ver. 21.08.2023. URL: <https://vdocuments.mx/microalgae-as-future-business-model-of-circular-.html?page=1>.
99. *Batista A.P., Gouveia L., Bandarra N.M., Franco J.M., Raymundo A.* Comparison of microalgal biomass profiles as novel functional ingredient for food products // *Algal Res.* 2013. V. 2, No 2. P. 164–173. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2013.01.004>.
100. *Dineshkumar R., Subramanian J., Gopalsamy J., Jayasingam P., Arumugam A., Kannadasan S., Sampathkumar P.* The impact of using microalgae as biofertilizer in maize (*Zea mays* L.) // *Waste Biomass Valorization*. 2019. V. 10, No 5. P. 1101–1110. <https://doi.org/10.1007/s12649-017-0123-7>.
101. *Guo S., Wang P., Wang X., Zou M., Liu C., Hao J.* Microalgae as biofertilizer in modern agriculture // Alam M.A., Xu J.-L., Wang Z. (Eds.) *Microalgae Biotechnology for Food, Health and High Value Products*. Singapore: Springer, 2020. P. 397–411. https://doi.org/10.1007/978-981-15-0169-2_12.
102. *Odjadjare E.C., Mutanda T., Olaniran A.O.* Potential biotechnological application of microalgae: A critical review // *Crit. Rev. Biotechnol.* 2017. V. 37, No 1. P. 37–52. <https://doi.org/10.3109/07388551.2015.1108956>.
103. *Alobwede E., Leake J.R., Pandhal J.* Circular economy fertilization: Testing micro and macro algal species as soil improvers and nutrient sources for crop production in greenhouse and field conditions // *Geoderma*. 2019. V. 334. P. 113–123. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2018.07.049>.
104. *Cao T.N.-D., Mukhtar H., Le L.-T., Tran D.P.-H., Ngo M.T.T., Pham M.-D.-T., Nguyen T.-B., Vo T.-K.-Q., Bui X.-T.* Roles of microalgae-based biofertilizer in sustainability of green agriculture and food-water-energy security nexus // *Sci. Total Environ.* 2023. V. 870. Art. 161927. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.161927>.
105. *Castro J.D.S., Calijuri M.L., Ferreira J., Assemany P.P., Ribeiro V.J.* Microalgae based biofertilizer: A life cycle approach // *Sci. Total Environ.* 2020. V. 724. Art. 138138. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138138>.
106. *Khan S.A., Sharma G.K., Malla F.A., Kumar A., Rashmi, Gupta N.* Microalgae based biofertilizers: A biorefinery approach to phycoremediate wastewater and harvest biodiesel and manure // *J. Cleaner Prod.* 2019. V. 211. P. 1412–1419. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.11.281>.
107. *Park Y.H., Han S.-I., Oh B., Kim H.S., Jeon M.S., Kim S., Choi Y.-E.* Microalgal secondary metabolite productions as a component of biorefinery: A review // *Bioresour. Technol.* 2022. V. 344, Pt. A. Art. 126206. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126206>.
108. *Rico M., Gonzalez A.G., Santana-Casiano M., Gonzalez-Davila M., Perez-Almeida N., de Tangil M.S.* Production of primary and secondary metabolites using algae // Tripathi B.N., Kumar D. (Eds.) *Prospects and Challenges in Algal Biotechnology*. Singapore: Springer, 2017. P. 311–326. https://doi.org/10.1007/978-981-10-1950-0_12.
109. *Muys M., Sui Y., Schwaiger B., Lesueur C., Vandenheuvel D., Vermeir P., Vlaeminck S.E.* High variability in nutritional value and safety of commercially available *Chlorella* and

- Spirulina biomass indicates the need for smart production strategies // *Bioresour. Technol.* 2019. V. 275. P. 247–257. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.12.059>.
110. Barka A., Blecker C. Microalgae as a potential source of single-cell proteins. A review // *Biotechnol., Agron., Soc. Environ.* 2016. V. 20, No 3. P. 427–436. <https://doi.org/10.25518/1780-4507.13132>.
111. Ritala A., Häkkinen S.T., Toivari M., Wiebe M.G. Single cell protein – state-of-the-art, industrial landscape and patents 2001–2016 // *Front. Microbiol.* 2017. V. 8. Art. 2009. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02009>.
112. Abiusi F., Fernandez P.M., Canziani S., Janssen M., Wijffels R.H., Barbosa M. Mixotrophic cultivation of *Galdieria sulphuraria* for C-phycocyanin and protein production // *Algal Res.* 2022. V. 61. Art. 102603. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102603>.
113. Mishra N., Gupta E., Singh P., Prasad R. Chapter 22 – Application of microalgae metabolites in food and pharmaceutical industry // Egbuna C., Mishra A.P., Goyal M.R. (Eds.) *Preparation of Phytopharmaceuticals for the Management of Disorders. The Development of Nutraceuticals and Traditional Medicine.* Oxford: Acad. Press, 2020. P. 391–408. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820284-5.00005-8>.
114. Sui Y., Muys M., Vermeir P., D'Adamo S., Vlaeminck S.E. Light regime and growth phase affect the microalgal production of protein quantity and quality with *Dunaliella salina* // *Bioresour. Technol.* 2019. V. 275. P. 145–152. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.12.046>.
115. Sui Y., Vlaeminck S.E. Effects of salinity, pH and growth phase on the protein productivity by *Dunaliella salina* // *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 2018. V. 94, No 4. P. 1032–1040. <https://doi.org/10.1002/jctb.5850>.
116. Eze C.N., Onyejiaka C.K., Ihim S.A., Ayoka T.O., Aduba C.C., Ndukwe J.K., Nwaiwu O., Onyeaka H. Bioactive compounds by microalgae and potentials for the management of some human disease conditions // *AIMS Microbiol.* 2023. V. 9, No 1. P. 55–74. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2023004>.
117. Zhou L., Li K., Duan X., Hill D., Barrow C., Dunshea F., Martin G., Suleria H. Bioactive compounds in microalgae and their potential health benefits // *Food Biosci.* 2022. V. 49. Art. 101932. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101932>.
118. Yen H.-W., Hu I.-C., Chen C.-Y., Ho S.-H., Lee D.-J., Chang J.-S. Microalgae-based biorefinery – from biofuels to natural products // *Bioresour. Technol.* 2013. V. 135. P. 166–174. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.099>.
119. John R.P., Anisha G.S., Nampootheri K.M., Pandey A. Micro and macroalgal biomass: A renewable source for bioethanol // *Bioresour. Technol.* 2011. V. 102, No 1. P. 186–193. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.139>.
120. Chochois V., Dauvillee D., Beyly A., Tolleter D., Cuine S., Timpano H., Ball S., Cournac L., Peltier G. Hydrogen production in *Chlamydomonas*: Photosystem II-dependent and -independent pathways differ in their requirement for starch metabolism // *Plant Physiol.* 2009. V. 151, No 2. P. 631–640. <https://doi.org/10.1104/pp.109.144576>.
121. Arad S.M., Levy-Ontman O. Red microalgal cell-wall polysaccharides: Biotechnological aspects // *Curr. Opin. Biotechnol.* 2010. V. 21, No 3. P. 358–364. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2010.02.008>.
122. Rajpoot A.S., Choudhary T., Chelladurai H., Verma T.N., Shende V. A comprehensive review on bioplastic production from microalgae // *Mater. Today: Proc.* 2022. V. 56, Pt. 1. P. 171–178. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.01.060>.
123. Cao K., Cui Y., Sun F., Zhang H., Fan J., Ge B., Cao Y., Wang X., Zhu X., Wei Z., Yao Q., Ma J., Wang Y., Meng C., Gao Z. Metabolic engineering and synthetic biology strategies

- for producing high-value natural pigments in Microalgae // *Biotechnol. Adv.* 2023. V. 68. Art. 108236. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2023.108236>.
124. *Milledge J.J.* Commercial application of microalgae other than as biofuels: A brief review // *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 2011. V. 10, No 1. P. 31–41. <https://doi.org/10.1007/s11157-010-9214-7>.
125. *Xiao F.-G., Shen L., Ji H.-F.* On photoprotective mechanisms of carotenoids in light harvesting complex // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2011. V. 414, No 1. P. 1–4. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.09.049>.
126. *Levasseur W., Perre P., Pozzobon V.* A review of high value-added molecules production by microalgae in light of the classification // *Biotechnol. Adv.* 2020. V. 41. Art. 107545. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107545>.
127. *Özçimen D., Inan B.* An overview of bioethanol production from algae // *Biernat K. (Ed.) Biofuel – Status and Perspective.* InTech, 2015. P. 141–162. <http://dx.doi.org/10.5772/59305>.
128. *Liang Y., Kashdan T., Sterner C., Dombrowski L., Petrick I., Kröger M., Höfer R.* Chapter 2 – Algal biorefineries // *Pandey A., Höfer R., Taherzadeh M., Nampoothiri K.M., Larroche C. (Eds.) Industrial Biorefineries & White Biotechnology.* Elsevier, 2015. P. 35–90. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63453-5.00002-1>.
129. *Sinha R.P., Pathak J., Rajneesh, Ahmed H., Pandey A., Singh P.R., Mishra S., Häder D.P.* Chapter 5 – Cyanobacterial photoprotective compounds: Characterization and utilization in human welfare // *Sinha R.P., Häder D.-P. (Eds.) Natural Bioactive Compounds.* Academic Press, 2020. P. 83–114. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820655-3.00005-7>.
130. *Moreau R.A., Whitaker B.D., Hicks K.B.* Phytosterols, phytostanols, and their conjugates in foods: Structural diversity, quantitative analysis, and health-promoting uses // *Prog. Lipid Res.* 2002. V. 41, No 6. P. 457–500. [https://doi.org/10.1016/S0163-7827\(02\)00006-1](https://doi.org/10.1016/S0163-7827(02)00006-1).
131. *Randhir A., Laird D.W., Maker G., Trengove R., Moheimani N.R.* Microalgae: A potential sustainable commercial source of sterols // *Algal Res.* 2020. V. 46. Art. 101772. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101772>.
132. *Chowdhury H., Loganathan B.* Third-generation biofuels from microalgae: A review // *Curr. Opin. Green Sustainable Chem.* 2019. V. 20. P. 39–44. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2019.09.003>.
133. *Razzak S.A., Lucky R.A., Hossain M.M., deLasa H.* Valorization of microalgae biomass to biofuel production: A review // *Energy Nexus.* 2022. V. 7. Art. 100139. <https://doi.org/10.1016/j.nexus.2022.100139>.
134. *Adekunle A.S., Oyekunle J.A.O., Oduwale A.I., Owootomo Y., Obisesan O.R., Elugoke S.E., Durodola S.S., Akintunde S.B., Oluwafemi O.S.* Biodiesel potential of used vegetable oils transesterified with biological catalysts // *Energy Rep.* 2020. V. 6. P. 2861–2871. <https://doi.org/10.1016/j.egy.2020.10.019>.
135. *Aragones M.M., Dominguez C.G., Ondrejčíková P., Torralvo F.A.* Bioenergy production side-streams availability assessment as decision making driver for sustainable valorisation technologies development. Case study: Bioethanol and biodiesel industries // *Energy Rep.* 2022. V. 8. P. 6856–6865. <https://doi.org/10.1016/j.egy.2022.05.030>.
136. *Sajid Z., Khan F., Zhang Y.* Process simulation and life cycle analysis of biodiesel production // *Renewable Energy.* 2016. V. 85. P. 945–952. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2015.07.046>.
137. *Hidalgo P., Toro C., Ciudad G., Navia R.* Advances in direct transesterification of microalgal biomass for biodiesel production // *Rev. Environ. Sci. Bio/Technol.* 2013. V. 12, No S2. P. 179–199. <https://doi.org/10.1007/s11157-013-9308-0>.

138. Li X., Xu H., Wu Q. Large-scale biodiesel production from microalga *Chlorella protothecoides* through heterotrophic cultivation in bioreactors // *Biotechnol. Bioeng.* 2007. V. 98, No 4. P. 764–771. <https://doi.org/10.1002/bit.21489>.
139. Lai J.-Q., Hu Z.-L., Wang P.-W., Yang Z. Enzymatic production of microalgal biodiesel in ionic liquid [BMIm][PF₆] // *Fuel.* 2012. V. 95. P. 329–333. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2011.11.001>.
140. Miao X., Wu Q. Biodiesel production from heterotrophic microalgal oil // *Bioresour. Technol.* 2006. V. 97, No 6. P. 841–846. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.04.008>.
141. Vijayaraghavan K., Hemanathan K. Biodiesel production from freshwater algae // *Energy Fuels.* 2009. V. 23, No 11. P. 5448–5453. <https://doi.org/10.1021/ef9006033>.
142. Hossain A., Salleh A., Boyce A.N., Chowdhury P., Naquiuddin M. Biodiesel fuel production from algae as renewable energy // *Am. J. Biochem. Biotechnol.* 2008. V. 4, No 3. P. 250–254. <https://doi.org/10.3844/AJBBS.2008.250.254>.
143. Teo S.H., Islam A., Yusaf T., Taufiq-Yap Y.H. Transesterification of *Nannochloropsis oculata* microalga's oil to biodiesel using calcium methoxide catalyst // *Energy.* 2014. V. 78. P. 63–71. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2014.07.045>.
144. Umdu E.S., Tuncer M., Seker E. Transesterification of *Nannochloropsis oculata* microalga's lipid to biodiesel on Al₂O₃ supported CaO and MgO catalysts // *Bioresour. Technol.* 2009. V. 100, No 11. P. 2828–2831. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.12.027>.
145. Kim K.H., Lee O.K., Kim C.H., Seo J.-W., Oh B.-R., Lee E.Y. Lipase-catalyzed *in-situ* biosynthesis of glycerol-free biodiesel from heterotrophic microalgae, *Aurantiochytrium* sp. KRS101 biomass // *Bioresour. Technol.* 2016. V. 211. P. 472–477. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.03.092>.
146. Hidalgo P., Ciudad G., Schober S., Mittelbach M., Navia R. Biodiesel synthesis by direct transesterification of microalga *Botryococcus braunii* with continuous methanol reflux // *Bioresour. Technol.* 2015. V. 181. P. 32–39. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.01.047>.
147. Chen C.-L., Huang C.-C., Ho K.-C., Hsiao P.-X., Wu M.-S., Chang J.-S. Biodiesel production from wet microalgae feedstock using sequential wet extraction/transesterification and direct transesterification processes // *Bioresour. Technol.* 2015. V. 194. P. 179–186. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.07.021>.
148. Ehimen E.A., Sun Z.F., Carrington C.G. Variables affecting the *in situ* transesterification of microalgae lipids // *Fuel.* 2010. V. 89, No 3. P. 677–684. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2009.10.011>.
149. Lee J.W.Y., Chia W.Y., Ong W.-J., Cheah W.-Y., Lim S.S., Chew K.W. Advances in catalytic transesterification routes for biodiesel production using microalgae // *Sustainable Energy Technol. Assess.* 2022. V. 52, Pt. D. Art. 102336. <https://doi.org/10.1016/j.seta.2022.102336>.
150. Levine R.B., Pinnarat T., Savage P.E. Biodiesel production from wet algal biomass through *in situ* lipid hydrolysis and supercritical transesterification // *Energy Fuels.* 2010. V. 24, No 9. P. 5235–5243. <https://doi.org/10.1021/ef1008314>.
151. Suh W.I., Mishra S.K., Kim T.-H., Farooq W., Moon M., Shrivastava A., Park M.S., Yang J.-W. Direct transesterification of wet microalgal biomass for preparation of biodiesel // *Algal Res.* 2015. V. 12. P. 405–411. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.10.006>.
152. Im H., Kim B., Lee J.W. Concurrent production of biodiesel and chemicals through wet *in situ* transesterification of microalgae // *Bioresour. Technol.* 2015. V. 193. P. 386–392. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.06.122>.
153. Jafari A., Esmaeilzadeh F., Mowla D., Sadatshojaei E., Heidari S., Wood D.A. New insights to direct conversion of wet microalgae impregnated with ethanol to biodiesel ex-

- ploiting extraction with supercritical carbon dioxide // *Fuel*. 2021. V. 285. Art. 119199. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.119199>.
154. *Wahidin S., Idris A., Shaleh S.R.M.* Ionic liquid as a promising biobased green solvent in combination with microwave irradiation for direct biodiesel production // *Bioresour. Technol.* 2016. V. 206. P. 150–154. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.01.084>.
155. *De Farias Silva C.E., Bertucco A.* Bioethanol from microalgae and cyanobacteria: A review and technological outlook // *Process Biochem.* 2016. V. 51, No 11. P. 1833–1842. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2016.02.016>.
156. *Vergara-Fernandez A., Vargas G., Alarcon N., Velasco A.* Evaluation of marine algae as a source of biogas in a two-stage anaerobic reactor system // *Biomass Bioenergy*. 2008. V. 32, No 4. P. 338–344. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2007.10.005>.
157. *Bajwa K., Bishnoi N.R., Baloch M.Y.J., Kumar S.P.J.* Advancement in algal biomass based biobutanol production technologies and research trends // Singh A., Kothari R., Bajar S., Tyagi V.V. (Eds.) *Sustainable Butanol Biofuels*. CRC Press, 2023. P. 182–198. <https://doi.org/10.1201/9781003165408>.
158. *Hossain N., Hasan M.H., Mahlia T.M.I., Shamsuddin A.H., Silitonga A.S.* Feasibility of microalgae as feedstock for alternative fuel in Malaysia: A review // *Energy Strategy Rev.* 2020. V. 32. Art. 100536. <https://doi.org/10.1016/j.esr.2020.100536>.
159. *Hu Y., Gong M., Feng S., Xu C.C., Bassi A.* A review of recent developments of pre-treatment technologies and hydrothermal liquefaction of microalgae for bio-crude oil production // *Renewable Sustainable Energy Rev.* 2019. V. 101. P. 476–492. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.11.037>.
160. *Guo Y., Yeh T., Song W., Xu D., Wang S.* A review of bio-oil production from hydrothermal liquefaction of algae // *Renewable Sustainable Energy Rev.* 2015. V. 48. P. 776–790. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.04.049>.
161. *Suntivarakorn R., Treedet W., Singbua P., Teeramaetawat N.* Fast pyrolysis from Napier grass for pyrolysis oil production by using circulating fluidized bed reactor: Improvement of pyrolysis system and production cost // *Energy Rep.* 2018. V. 4. P. 565–575. <https://doi.org/10.1016/j.egy.2018.08.004>.
162. *Brown T.M., Duan P., Savage P.E.* Hydrothermal liquefaction and gasification of *Nannochloropsis* sp. // *Energy Fuels*. 2010. V. 24, No 6. P. 3639–3646. <https://doi.org/10.1021/ef100203u>.
163. *Martinez-Villarreal S., Breitenstein A., Nimmegeers P., Saura P.P., Hai B., Asomaning J., Eslami A.A., Billen P., Van Passel S., Bressler D.C., Debecker D.P., Remacle C., Richel A.* Drop-in biofuels production from microalgae to hydrocarbons: Microalgal cultivation and harvesting, conversion pathways, economics and prospects for aviation // *Biomass Bioenergy*. 2022. V. 165. Art. 106555. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2022.106555>.
164. *Mahmudul H.M., Rasul M.G., Akbar D., Narayanan R., Mofijur M.* A comprehensive review of the recent development and challenges of a solar-assisted biodigester system // *Sci. Total Environ.* 2021. V. 753. Art. 141920. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141920>.
165. *Passos F., Mota C., Donoso-Bravo A., Astals S., Jeison D., Muñoz R.* Biofuels from microalgae: Biomethane // Jacob-Lopes E., Zepka L.Q., Queiroz M.I. (Eds.) *Energy from Microalgae*. Springer: Cham, 2018. P. 247–270. https://doi.org/10.1007/978-3-319-69093-3_12.
166. *Gonzalez-Fernandez C., Sialve B., Molinuevo-Salces B.* Anaerobic digestion of microalgal biomass: Challenges, opportunities and research needs // *Bioresour. Technol.* 2015. V. 198. P. 896–906. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.09.095>.

167. Chandrasekhar K., Raj T., Ramanaiah S.V., Kumar G., Banu J.R., Varjani S., Sharma P., Pandey A., Kumar S., Kim S.-H. Algae biorefinery: A promising approach to promote microalgae industry and waste utilization // J. Biotechnol. 2022. V. 345. P. 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2021.12.008>.
168. Ali S.S., Mastropetros S.G., Schagerl M., Sakarika M., Elsamahy T., El-Sheekh M., Sun J., Kornaros M. Recent advances in wastewater microalgae-based biofuels production: A state-of-the-art review // Energy Rep. 2022. V. 8. P. 13253–13280. <https://doi.org/10.1016/j.egy.2022.09.143>.
169. Kaparapu J. Polyhydroxyalkanoate (PHA) production by genetically engineered microalgae: A review // J. New Biol. Rep. 2018. V. 7, No 2. P. 68–73.
170. Raza Z.A., Abid S., Banat I.M. Polyhydroxyalkanoates: Characteristics, production, recent developments and applications // Int. Biodeterior. Biodegrad. 2018. V. 126. P. 45–56. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.10.001>.
171. Balaji S., Gopi K., Muthuvelan B. A review on production of poly β hydroxybutyrate from cyanobacteria for the production of bio plastics // Algal Res. 2013. V. 2, No 3. P. 278–285. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2013.03.002>.
172. Cassuriaga A.P.A., Freitas B.C.B., Morais M.G., Costa J.A.V. Innovative polyhydroxybutyrate production by *Chlorella fusca* grown with pentoses // Bioresour. Technol. 2018. V. 265. P. 456–463. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.06.026>.
173. Киселев Е.Г., Шишацкий О.Н., Сински Э.Дж. Техничко-технологические основы производства разрушаемых полигидроксиалканоатов // Журнал Сибирского федерального университета. Биология. 2012. Т. 5. Вып. 3. С. 300–310.
174. Kartik A., Akhil D., Lakshmi D., Gopinath K.P., Arun J., Sivaramakrishnan R., Pugazhendhi A. A critical review on production of biopolymers from algae biomass and their applications // Bioresour. Technol. 2021. V. 329. Art. 124868. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124868>.

Поступила в редакцию 18.05.2023

Принята к публикации 31.08.2023

Глазунова Дарина Марковна, научный сотрудник НИЛ OpenLab «Биоконтроль»

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: darina.glazunova@yandex.ru

Галицкая Полина Юрьевна, доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры прикладной экологии

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: gpolina33@yandex.ru

Селивановская Светлана Юрьевна, доктор биологических наук, профессор, директор Института экологии и природопользования, профессор кафедры прикладной экологии

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: svetlana.selivanovskaya@kpfu.ru

ORIGINAL ARTICLE

doi: 10.26907/2542-064X.2024.1.82-125

Atmospheric Carbon Sequestration Using Microalgae

D.M. Glazunova*, P.Yu. Galitskaya**, S.Yu. Selivanovskaya***

Kazan Federal University, Kazan, 420008 Russia

E-mail: *darina.glazunova@yandex.ru, **gpolina33@yandex.ru,
***svetlana.selivanovskaya@kpfu.ru

Received May 18, 2023; Accepted August 31, 2023

Abstract

This article outlines biotechnological methods that can help reduce atmospheric and industrial carbon dioxide emissions through the use of microalgae. A general description of microalgae was provided, and the most promising species for microalgal biotechnology were identified. The metabolic process by which microalgae capture and degrade carbon dioxide was described. The microalgae-based biotechnological systems and devices available today were analyzed. The key factors that need to be considered for the effective and successful use of microalgae were highlighted. Different products obtained from microalgal biomass after atmospheric carbon dioxide sequestration were overviewed.

Keywords: carbon dioxide, carbon sequestration, microalgae, microalgae biomass, biotechnological facilities for growing microalgae

Acknowledgements. This study was supported by the subsidy allocated to Kazan Federal University as part of the state program to enhance its competitiveness among the world's leading centers of science and education.

Conflicts of Interest. The authors declare no conflicts of interest.

References

1. Canadell J.G., Kirschbaum M.U.F., Kurz W.A., Sanz M.-J., Schlamadinger B., Yamagata Y. Factoring out natural and indirect human effects on terrestrial carbon sources and sinks. *Environ. Sci. Policy*, 2007, vol. 10, no. 4, pp. 370–384. <https://doi.org/10.1016/j.envsci.2007.01.009>.
2. FY 2017 Agency Financial Report. Ver. 15.11. URL: <https://www.epa.gov/planandbudget/fy-2017-agency-financial-report>.
3. Kumar M., Sundaram S., Gnansounou E., Larroche C., Thakur I.S. Carbon dioxide capture, storage and production of biofuel and biomaterials by bacteria: A review. *Bioresour. Technol.*, 2018, vol. 247, pp. 1059–1068. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.050>.
4. Zhou W., Wang J., Chen P., Ji C., Kang Q., Lu B., Li K., Liu J., Ruan R. Bio-mitigation of carbon dioxide using microalgal systems: Advances and perspectives. *Renewable Sustainable Energy Rev.*, 2017, vol. 76, pp. 1163–1175. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.03.065>.
5. Vaz S., Jr., de Souza A.P.R., Baeta B.E.L. Technologies for carbon dioxide capture: A review applied to energy sectors. *Cleaner Eng. Technol.*, 2022, vol. 8, art. 100456. <https://doi.org/10.1016/j.clet.2022.100456>.
6. Paraschiv S., Paraschiv L.S. Trends of carbon dioxide (CO₂) emissions from fossil fuels combustion (coal, gas and oil) in the EU member states from 1960 to 2018. *Energy Rep.*, 2020, vol. 6, no. S8, pp. 237–242. <https://doi.org/10.1016/j.egy.2020.11.116>.

7. Akbostancı E., Tunç G.I., Türüt-Aşık S. Drivers of fuel based carbon dioxide emissions: The case of Turkey. *Renewable Sustainable Energy Rev.*, 2018, vol. 81, pt. 2, pp. 2599–2608. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.06.066>.
8. Wang X.G., Yan L. Driving factors and decoupling analysis of fossil fuel related-carbon dioxide emissions in China. *Fuel*, 2022, vol. 314, art. 122869. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2021.122869>.
9. Singh P., Srivastava R. Utilization of bio-inspired catalyst for CO₂ reduction into green fuels: Recent advancement and future perspectives. *J. CO₂ Util.*, 2021, vol. 53, art. 101748. <https://doi.org/10.1016/j.jcou.2021.101748>.
10. Becattini V., Gabrielli P., Antonini C., Campos J., Acquilino A., Sansavini G., Mazzotti M. Carbon dioxide capture, transport and storage supply chains: Optimal economic and environmental performance of infrastructure rollout. *Int. J. Greenhouse Gas Control*, 2022, vol. 117, art.103635. <https://doi.org/10.1016/j.ijggc.2022.103635>.
11. Cheah W.Y., Ling T.C., Juan J.C., Lee D.-J., Chang J.-S., Show P.L. Biorefineries of carbon dioxide: From carbon capture and storage (CCS) to bioenergies production. *Bioresour. Technol.*, 2016, vol. 215, pp. 346–356. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.04.019>.
12. Salih H.A., Pokhrel J., Reinalda D., AlNashf I., Khaleel M., Vega L.F., Karanikolos G.N., Zahra M.A. Hybrid-Slurry/Nanofluid systems as alternative to conventional chemical absorption for carbon dioxide capture: A review. *Int. J. Greenhouse Gas Control*, 2021, vol. 110, art. 103415. <https://doi.org/10.1016/j.ijggc.2021.103415>.
13. Mukherjee A., Okolie J.A., Abdelrasoul A., Niu C., Dalai A.K. Review of post-combustion carbon dioxide capture technologies using activated carbon. *J. Environ. Sci.*, 2019, vol. 83, pp. 46–63. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2019.03.014>.
14. Gür T.M. Carbon dioxide emissions, capture, storage and utilization: Review of materials, processes and technologies. *Prog. Energy Combust. Sci.*, 2022, vol. 89, art. 100965. <https://doi.org/10.1016/j.peccs.2021.100965>.
15. Bhatia S.K., Bhatia R.K., Jeon J.-M., Kumar G., Yang Y.-H. Carbon dioxide capture and bioenergy production using biological system – a review. *Renewable Sustainable Energy Rev.*, 2019, vol. 110, pp. 143–158. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.04.070>.
16. Aghaalipour E., Akbulut A., Güllü G. Carbon dioxide capture with microalgae species in continuous gas-supplied closed cultivation systems. *Biochem. Eng. J.*, 2020, vol. 163, art. 107741. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2020.107741>.
17. Zahed M.A., Movahed E., Khodayari A., Zanganeh S., Badamaki M. Biotechnology for carbon capture and fixation: Critical review and future directions. *J. Environ. Manage.*, 2021, vol. 293, art. 112830. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112830>.
18. Gayathri R., Mahboob S., Govindarajan M., Al-Ghanim K.A., Ahmed Z., Al-Mulhm N., Vodovnik M., Vijayalakshmi S. A review on biological carbon sequestration: A sustainable solution for a cleaner air environment, less pollution and lower health risks. *J. King Saud Univ., Sci.*, 2021, vol. 33, no. 2, art. 101282. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2020.101282>.
19. Onyeaka H., Miri T., Obileke K., Hart A., Anumudu C., Al-Sharify Z.T. Minimizing carbon footprint via microalgae as a biological capture. *Carbon Capture Sci. Technol.*, 2021, vol. 1, art. 100007. <https://doi.org/10.1016/j.ccst.2021.100007>.
20. Cheah W.Y., Show P.L., Chang J.-S., Ling T.C., Juan J.C. Biosequestration of atmospheric CO₂ and flue gas-containing CO₂ by microalgae. *Bioresour. Technol.*, 2015, vol. 184, pp. 190–201. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.11.026>.
21. Kumar K., Dasgupta C.N., Nayak B., Lindblad P., Das D. Development of suitable photobioreactors for CO₂ sequestration addressing global warming using green algae and cyanobacteria. *Bioresour. Technol.*, 2011, vol. 102, no. 8, pp. 4945–4953. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.01.054>.
22. Wang B., Lan C.Q. 15 – Biofixation of carbon dioxide (CO₂) by microorganisms. In: Maroto-Valer M.M. (Ed.) *Developments and Innovation in Carbon Dioxide (CO₂) Capture and Storage Technology*. Vol. 2. Cambridge, Woodhead Publ., 2010, pp. 411–432. <https://doi.org/10.1533/9781845699581.4.411>.
23. Senatore A., Lania I., Corrente G.A., Basile A. Chapter 18 – CO₂ capture by bacteria and their enzymes. In: Rahimpour M.R., Farsi M., Makarem M.A. (Eds.) *Advances in Carbon Capture:*

- Methods, Technologies and Applications*. Cambridge, Woodhead Publ., 2020, pp. 407–429. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819657-1.00018-9>.
24. Borrero-Santiago A.R., DelValls T.A., Riba I. Carbon capture and storage (CCS): Risk assessment focused on marine bacteria. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 2016, vol. 131, pp. 157–163. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.04.020>.
 25. Thakur I.S., Kumar M., Varjani S.J., Wu Y., Gnansounou E., Ravindran S. Sequestration and utilization of carbon dioxide by chemical and biological methods for biofuels and biomaterials by chemoautotrophs: Opportunities and challenges. *Bioresour. Technol.*, 2018, vol. 256, pp. 478–490. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.02.039>.
 26. Giordano M., Beardall J., Raven J.A. CO₂ concentrating mechanisms in algae: Mechanisms, environmental modulation, and evolution. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 2005, vol. 56:1, pp. 99–131. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.56.032604.144052>
 27. Wang B., Li Y.Q., Wu N., Lan C.Q. CO₂ bio-mitigation using microalgae. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2008, vol. 79, no. 5, pp. 707–718. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1518-y>.
 28. Cheng J., Huang Y., Feng J., Sun J., Zhou J., Cen K. Improving CO₂ fixation efficiency by optimizing *Chlorella* PY-ZU1 culture conditions in sequential bioreactors. *Bioresour. Technol.*, 2013, vol. 144, pp. 321–327. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.06.122>.
 29. Russell C., Rodriguez C., Yaseen M. High-value biochemical products & applications of freshwater eukaryotic microalgae. *Sci. Total Environ.*, 2022, vol. 809, art. 151111. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151111>.
 30. Yousuf A. Chapter 1 – Fundamentals of microalgae cultivation. In: Yousuf A. (Ed.) *Microalgae Cultivation for Biofuels Production*. Cambridge, Acad. Press, 2020, pp. 1–9. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817536-1.00001-1>.
 31. Al-Dulaimi O., Rateb M.E., Hursthouse A.S., Thomson G., Yaseen M. The brown seaweeds of Scotland, their importance and applications. *Environments*, 2021, vol. 8, no. 6, art. 59. <https://doi.org/10.3390/environments8060059>.
 32. Mobin S., Alam F. Some promising microalgal species for commercial applications: A review. *Energy Procedia*, 2017, vol. 110, pp. 510–517. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2017.03.177>.
 33. Efimov P.G. *Al'gologiya i mikologiya: uchebnoe posobie* [Algology and Mycology: A Study Guide]. Moscow, Tov-vo. Nauchn. Izd. KMK, 2011. 120 p. (In Russian)
 34. Belyakova G.A., D'yakov Yu.T., Tarasov K.L. Ochrophyte algae (ochrophytes) – *Ochrophyta*. In: *Botanika: uchebnik dlya studentov vysshikh uchebnykh zavedenii* [Botany: A Textbook for Students of Higher Education Institutions]. Vol. 2: Algae and fungi. Moscow, Akademiya, 2006, pp. 50–138. (In Russian)
 35. Schoch C.L., Ciuffo S., Domrachev M., Hotton C.L., Kannan S., Khovanskaya R., Leipe D., McVeigh R., O'Neill K., Robbertse B., Sharma S., Soussov V., Sullivan J.P., Sun L., Turner S., Karsch-Mizrachi I. NCBI Taxonomy: A comprehensive update on curation, resources and tools. *Database*, 2020, vol. 2020, pp. 1–21. <https://doi.org/10.1093/database/baaa062>.
 36. Sánchez-Baracaldo P., Bianchini G., Wilson J.D., Knoll A.H. Cyanobacteria and biogeochemical cycles through Earth history. *Trends Microbiol.*, 2022, vol. 30, no. 2, pp. 143–157. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2021.05.008>.
 37. Dvoretiskii D.S., Temnov M.S., Ustinskaya Ya.V., Es'kova M.A. *Perspektivnye biotekhnologii mikrovdoroslei: uchebnoe posobie* [Potential Biotechnological Applications of Microalgae: A Textbook]. Tambov, Izd. Tsentra TGTU, 2022. 128 p. (In Russian)
 38. Bhatt N.C., Panwar A., Bisht T.S., Tanta S. Coupling of algal biofuel production with wastewater. *Sci. World J.*, 2014, vol. 2014, art. 210504. <https://doi.org/10.1155/2014/210504>.
 39. Jiang L., Luo S., Fan X., Yang Z., Guo R. Biomass and lipid production of marine microalgae using municipal wastewater and high concentration of CO₂. *Appl. Energy*, 2011, vol. 88, no. 10, pp. 3336–3341. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2011.03.043>.
 40. Saini R., Kapoor R., Kumar R., Siddiqi T.O., Kumar A. CO₂ utilizing microbes – a comprehensive review. *Biotechnol. Adv.*, 2011, vol. 29, no. 6, pp. 949–960. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.08.009>.

41. Yadav G., Dubey B.K., Sen R. A comparative life cycle assessment of microalgae production by CO₂ sequestration from flue gas in outdoor raceway ponds under batch and semi-continuous regime. *J. Cleaner Prod.*, 2020, vol. 258, art. 120703. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.120703>.
42. Zhou W., Chen P., Min M., Ma X., Wang J., Griffith R., Hussain F., Peng P., Xie Q., Li Y., Shi J., Meng J., Ruan R. Environment-enhancing algal biofuel production using wastewaters. *Renewable Sustainable Energy Rev.*, 2014, vol. 36, pp. 256–269. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.04.073>.
43. De Godos I., Mendoza J.L., Acien F.G., Molina E., Banks C.J., Heaven S., Rogalla F. Evaluation of carbon dioxide mass transfer in raceway reactors for microalgae culture using flue gases. *Bioresour. Technol.*, 2014, vol. 153, pp. 307–314. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.11.087>.
44. Sfez S., Van Den Hende S., Taelman S.E., De Meester S., Dewulf J. Environmental sustainability assessment of a microalgae raceway pond treating aquaculture wastewater: From up-scaling to system integration. *Bioresour. Technol.*, 2015, vol. 190, pp. 321–331. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.04.088>.
45. Carneiro M., Maia I. B., Cunha P., Guerra I., Magina T., Santos T., Schulze P.S.C., Pereira H., Malcata F.X., Navalho J., Silva J., Otero A., Varela J. Effects of LED lighting on *Nannochloropsis oceanica* grown in outdoor raceway ponds. *Algal Res.*, 2022, vol. 64, art. 102685. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102685>.
46. Kiran B., Kumar R., Deshmukh D. Perspectives of microalgal biofuels as a renewable source of energy. *Energy Convers. Manage.*, 2014, vol. 88, pp. 1228–1244. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2014.06.022>.
47. Faried M., Samer M., Abdelsalam E., Yousef R.S., Attia Y.A., Ali A.S. Biodiesel production from microalgae: Processes, technologies and recent advancements. *Renewable Sustainable Energy Rev.*, 2017, vol. 79, pp. 893–913. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.05.199>.
48. Braga A., Mesquita D.P., Amaral A.L., Ferreira E.C., Belo I. Aroma production by *Yarrowia lipolytica* in airlift and stirred tank bioreactors: Differences in yeast metabolism and morphology. *Biochem. Eng. J.*, 2015, vol. 93, pp. 55–62. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2014.09.006>.
49. Maltsev Y., Maltseva K., Kulikovskiy M., Maltseva S. Influence of light conditions on microalgae growth and content of lipids, carotenoids, and fatty acid composition. *Biology*, 2021, vol. 10, no. 10, art. 1060. <https://doi.org/10.3390/biology10101060>.
50. Duarte J.H., de Morais E.G., Radmann E.M., Costa J.A.V. Biological CO₂ mitigation from coal power plant by *Chlorella fusca* and *Spirulina* sp. *Bioresour. Technol.*, 2017, vol. 234, pp. 472–475. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.03.066>.
51. Yadav G., Karemora A., Dash S.K., Sen R. Performance evaluation of a green process for microalgal CO₂ sequestration in closed photobioreactor using flue gas generated *in-situ*. *Bioresour. Technol.*, 2015, vol. 191, pp. 399–406. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.04.040>.
52. Chhandama M.V.L., Satyan K.B., Changmai B., Vanlalveni C., Rokhum S.L. Microalgae as a feedstock for the production of biodiesel: A review. *Bioresour. Technol. Rep.*, 2021, vol. 15, art. 100771. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2021.100771>.
53. Ibn-Mohammed T., Greenough R., Taylor S., Ozawa-Meida L., Acquaye A. Operational vs. embodied emissions in buildings – a review of current trends. *Energy Build.*, 2013, vol. 66, pp. 232–245. <https://doi.org/10.1016/j.enbuild.2013.07.026>.
54. Ho S.-H., Chen C.-Y., Lee D.-J., Chang J.-S. Perspectives on microalgal CO₂-emission mitigation systems – a review. *Biotechnol. Adv.*, 2011, vol. 29, no. 2, pp. 189–198. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.11.001>.
55. Trotta P. A simple and inexpensive system for continuous monoxenic mass culture of marine microalgae. *Aquaculture*, 1981, vol. 22, pp. 383–387. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(81\)90165-4](https://doi.org/10.1016/0044-8486(81)90165-4).
56. Aslam A., Thomas-Hall S.R., Mughal T.A., Schenk P.M. Selection and adaptation of microalgae to growth in 100% unfiltered coal-fired flue gas. *Bioresour. Technol.*, 2017, vol. 233, pp. 271–283. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.02.111>.
57. Yaqoubnejad P., Rad H.A., Taghavijeloudar M. Development a novel hexagonal airlift flat plate photobioreactor for the improvement of microalgae growth that simultaneously enhance CO₂ bio-fixation and wastewater treatment. *J. Environ. Manage.*, 2021, vol. 298, art. 113482. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113482>.

58. Khadim S.R., Singh P., Singh A.K., Tiwari A., Mohanta A., Asthana R.K. Mass cultivation of *Dunaliella salina* in a flat plate photobioreactor and its effective harvesting. *Bioresour. Technol.*, 2018, vol. 270, pp. 20–29. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.08.071>.
59. Xiao R., Zheng Y. Overview of microalgal extracellular polymeric substances (EPS) and their applications. *Biotechnol. Adv.*, 2016, vol. 34, no. 7, pp. 1225–1244. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2016.08.004>.
60. Lam M.K., Lee K.T., Mohamed A.R. Current status and challenges on microalgae-based carbon capture. *Int. J. Greenhouse Gas Control*, 2012, vol. 10, pp. 456–469. <https://doi.org/10.1016/j.ijggc.2012.07.010>.
61. Abd Rahaman M.S., Cheng L.-H., Xu X.-H., Zhang L., Chen H.-L. A review of carbon dioxide capture and utilization by membrane integrated microalgal cultivation processes. *Renewable Sustainable Energy Rev.*, 2011, vol. 15, no. 8, pp. 4002–4012. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2011.07.031>.
62. Scholes C.A., Kentish S.E., Stevens G.W. The effect of condensable minor components on the gas separation performance of polymeric membranes for carbon dioxide capture. *Energy Procedia*, 2009, vol. 1, no. 1, pp. 311–317. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2009.01.043>.
63. Mortezaeikia V., Yegani R., Tavakoli O. Membrane-sparger vs. membrane contactor as a photobioreactors for carbon dioxide biofixation of *Synechococcus elongatus* in batch and semi-continuous mode. *J. CO₂ Util.*, 2016, vol. 16, pp. 23–31. <https://doi.org/10.1016/j.jcou.2016.05.009>.
64. Senatore V., Buonerba A., Zarra T., Oliva G., Belgiorno V., Boguniewicz-Zablocka J., Naddeo V. Innovative membrane photobioreactor for sustainable CO₂ capture and utilization. *Chemosphere*, 2021, vol. 273, art. 129682. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129682>.
65. Zhang D., Fung K.Y., Ng K.M. Novel filtration photobioreactor for efficient biomass production. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2014, vol. 53, no. 33, pp. 12927–12934. <https://doi.org/10.1021/ie501913k>.
66. Fulazzaky M.A., Talaiekhazani A., Ponraj M., Abd Majid M.Z., Hadibarata T., Goli A. Biofiltration process as an ideal approach to remove pollutants from polluted air. *Desalin. Water Treat.*, 2014, vol. 52, nos. 19–21, pp. 3600–3615. <https://doi.org/10.1080/19443994.2013.854102>.
67. Zhang Y., Liu J., Xing H., Li J. Performance and fungal diversity of bio-trickling filters packed with composite media of polydimethylsiloxane and foam ceramics for hydrophobic VOC removal. *Chemosphere*, 2020, vol. 256, art. 127093. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127093>.
68. Goli A., Shamiri A., Talaiekhazani A., Eshtiaghi N., Aghamohammadi N., Aroua M.K. An overview of biological processes and their potential for CO₂ capture. *J. Environ. Manage.*, 2016, vol. 183, pt. 1, pp. 41–58. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.08.054>.
69. Douskova I., Doucha J., Livansky K., Machat J., Novak P., Umysova D., Zachleder V., Vitova M. Simultaneous flue gas bioremediation and reduction of microalgal biomass production costs. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2009, vol. 82, pp. 179–185. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1811-9>.
70. Baba Y., Tanabe T., Shirai N., Watanabe T., Honda Y., Watanabe T. Pretreatment of Japanese cedar wood by white rot fungi and ethanolysis for bioethanol production. *Biomass Bioenergy*, 2011, vol. 35, no. 1, pp. 320–324. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2010.08.040>.
71. Ramanan R., Kannan K., Deshkar A., Yadav R., Chakrabarti T. Enhanced algal CO₂ sequestration through calcite deposition by *Chlorella* sp. and *Spirulina platensis* in a mini-raceway pond. *Bioresour. Technol.*, 2010, vol. 101, no. 8, pp. 2616–2622. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.10.061>.
72. Zhao B., Su Y. Process effect of microalgal-carbon dioxide fixation and biomass production: A review. *Renewable Sustainable Energy Rev.*, 2014, vol. 31, pp. 121–132. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2013.11.054>.
73. Ho S.-H., Huang S.-W., Chen C.-Y., Hasunuma T., Kondo A., Chang J.-S. Bioethanol production using carbohydrate-rich microalgae biomass as feedstock. *Bioresour. Technol.*, 2013, vol. 135, pp. 191–198. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.015>.
74. Ho S.-H., Chang J.-S., Lai Y.-Y., Chen C.-N.N. Achieving high lipid productivity of a thermotolerant microalga *Desmodesmus* sp. F2 by optimizing environmental factors and nutrient conditions. *Bioresour. Technol.*, 2014, vol. 156, pp. 108–116. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.01.017>.
75. Kumar A., Ergas S., Yuan X., Sahu A., Zhang Q., Dewulf J., Malcata F.X., van Langenhove H. Enhanced CO₂ fixation and biofuel production via microalgae: Recent devel-

- opments and future directions. *Trends Biotechnol.*, 2010, vol. 28, no. 7, pp. 371–380. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2010.04.004>.
76. Verma R., Kumari K.V.L.K., Srivastava A., Kumar A. Photoautotrophic, mixotrophic, and heterotrophic culture media optimization for enhanced microalgae production. *J. Environ. Chem. Eng.*, 2020, vol. 8, no. 5, art. 104149. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104149>.
77. Aburai N., Nishida A., Abe K. Aerial microalgae *Coccomyxa simplex* isolated from a low-temperature, low-light environment, and its biofilm growth and lipid accumulation. *Algal Res.*, 2021, vol. 60, art. 102522. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102522>.
78. Liang Y., Tang J., Luo Y., Kaczmarek M.B., Li X., Daroch M. Thermophilic photosynthetic microbial cell factory for CO₂ utilisation. *Bioresour. Technol.*, 2019, vol. 278, pp. 255–265. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.01.089>.
79. Perez-Garcia O., Escalante F.M., De-Bashan L.E., Bashan Y. Heterotrophic cultures of microalgae: Metabolism and potential products. *Water Res.*, 2011, vol. 45, no. 1, pp. 11–36. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.08.037>.
80. Zeng X., Danquah M.K., Chen X.D., Lu Y. Microalgae bioengineering: From CO₂ fixation to biofuel production. *Renewable Sustainable Energy Rev.*, 2011, vol. 15, no. 6, pp. 3252–3260. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2011.04.014>.
81. Cuaresma M., Garbayo I., Vega J.M., Vilchez C. Growth and photosynthetic utilization of inorganic carbon of the microalga *Chlamydomonas acidophila* isolated from Tinto River. *Enzyme Microb. Technol.*, 2006, vol. 40, no. 1, pp. 158–162. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2005.10.049>.
82. Saini N., Pal K., Deepak B., Mona S. Thermophilic algae: A new prospect towards environmental sustainability. *J. Cleaner Prod.*, 2021, vol. 324, art. 129277. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.129277>.
83. Ghozzi K., Zemzem M., Dhiab R.B., Challouf R., Yahia A., Omrane H., Ouada H.B. Screening of thermophilic microalgae and cyanobacteria from Tunisian geothermal sources. *J. Arid Environ.*, 2013, vol. 97, pp. 14–17. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2013.05.004>.
84. Carvalho A.P., Silva S.O., Baptista J.M., Malcata F.X. Light requirements in microalgal photobioreactors: An overview of biophotonic aspects. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2011, vol. 89, no. 5, pp. 1275–1288. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-3047-8>.
85. Ma S., Zeng W., Huang Y., Zhu X., Xia A., Zhu X., Liao Q. Revealing the synergistic effects of cells, pigments, and light spectra on light transfer during microalgae growth: A comprehensive light attenuation model. *Bioresour. Technol.*, 2022, vol. 348, art. 126777. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.126777>.
86. Pires J.C.M., Alvim-Ferraz M.C.M., Martins F.G., Simoes M. Carbon dioxide capture from flue gases using microalgae: Engineering aspects and biorefinery concept. *Renewable Sustainable Energy Rev.*, 2012, vol. 16, no. 5, pp. 3043–3053. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2012.02.055>.
87. Lee K.T., Bhatia S., Mohamed A.R. Preparation and characterization of sorbents prepared from ash (waste material) for sulfur dioxide (SO₂) removal. *J. Mater. Cycles Waste Manage.*, 2005, vol. 7, pp. 16–23. <https://doi.org/10.1007/s10163-004-0121-2>.
88. Lee J.-S., Kim D.-K., Lee J.-P., Park S.-C., Koh J.-H., Cho H.-S., Kim S.-W. Effects of SO₂ and NO on growth of *Chlorella* sp. KR-1. *Bioresour. Technol.*, 2002, vol. 82, no. 1, pp. 1–4. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00158-4](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00158-4).
89. Calijuri M.L., Silva T.A., Magalhaes I.B., Pereira A.S.A.D.P., Marangon B.B., de Assis L.R., Lorentz J.F. Bioproducts from microalgae biomass: Technology, sustainability, challenges and opportunities. *Chemosphere*, 2022, vol. 305, art. 135508. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135508>.
90. Dineshbabu G., Goswami G., Kumar R., Sinha A., Das D. Microalgae–nutritious, sustainable aqua-and animal feed source. *J. Funct. Foods*, 2019, vol. 62, art. 103545. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103545>.
91. Madeira M.S., Cardoso C., Lopes P.A., Coelho D., Afonso C., Bandarra N.M., Prates J.A.M. Microalgae as feed ingredients for livestock production and meat quality: A review. *Livest. Sci.*, 2017, vol. 205, pp. 111–121. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2017.09.020>.
92. Kusmayadi A., Leong Y.K., Yen H.-W., Huang C.-Y., Chang J.-S. Microalgae as sustainable food and feed sources for animals and humans – biotechnological and environmental aspects. *Chemosphere*, 2021, vol. 271, art. 129800. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129800>.

93. Liu R., Li S., Tu Y., Hao X., Qiu F. Recovery of value-added products by mining microalgae. *J. Environ. Manage.*, 2022, vol. 307, art. 114512. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.114512>.
94. Sathasivam R., Radhakrishnan R., Hashem A., Abd Allah E.F. Microalgae metabolites: A rich source for food and medicine. *Saudi J. Biol. Sci.*, 2019, vol. 26, no. 4, pp. 709–722. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.11.003>.
95. Siddiki S.Y.A., Mofijur M., Kumar P.S., Ahmed S.F., Inayat A., Kusumo F., Badruddin I.A., Khan T.M.Y., Nghiem L.D., Ong H.C., Mahlia T.M.I. Microalgae biomass as a sustainable source for biofuel, biochemical and biobased value-added products: An integrated biorefinery concept. *Fuel*, 2022, vol. 307, art. 121782. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2021.121782>.
96. Ferreira de Oliveira A.P., Bragotto A.P.A. Microalgae-based products: Food and public health. *Future Foods*, 2022, vol. 6, art. 100157. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2022.100157>.
97. Spolaore P., Joannis-Cassan C., Duran E., Isambert A. Commercial applications of microalgae. *J. Biosci. Bioeng.*, 2006, vol. 101, no. 2, pp. 87–96. <https://doi.org/10.1263/jbb.101.87>.
98. Herrador M. The Microalgae/Biomass Industry in Japan. An Assessment of Co-operation and Business Potential with European Companies. EU-Japan Centre for Industrial Cooperation, Minerva EU-Japan Fellowship. Ver. 21.08.2023. URL: <https://vdocuments.mx/microalgae-as-future-business-model-of-circular-.html?page=1>.
99. Batista A.P., Gouveia L., Bandarra N.M., Franco J.M., Raymundo A. Comparison of microalgal biomass profiles as novel functional ingredient for food products. *Algal Res.*, 2013, vol. 2, no. 2, pp. 164–173. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2013.01.004>.
100. Dineshkumar R., Subramanian J., Gopalsamy J., Jayasingam P., Arumugam A., Kannadasan S., Sampathkumar P. The impact of using microalgae as biofertilizer in maize (*Zea mays L.*). *Waste Biomass Valorization*, 2019, vol. 10, no. 5, pp. 1101–1110. <https://doi.org/10.1007/s12649-017-0123-7>.
101. Guo S., Wang P., Wang X., Zou M., Liu C., Hao J. Microalgae as biofertilizer in modern agriculture. In: Alam M.A., Xu J.-L., Wang Z. *Microalgae Biotechnology for Food, Health and High Value Products*. Singapore, Springer, 2020, pp. 397–411. https://doi.org/10.1007/978-981-15-0169-2_12.
102. Odjadjare E.C., Mutanda T., Olaniran A.O. Potential biotechnological application of microalgae: A critical review. *Crit. Rev. Biotechnol.*, 2017, vol. 37, no. 1, pp. 37–52. <https://doi.org/10.3109/07388551.2015.1108956>.
103. Alobwede E., Leake J.R., Pandhal J. Circular economy fertilization: Testing micro and macro algal species as soil improvers and nutrient sources for crop production in greenhouse and field conditions. *Geoderma*, 2019, vol. 334, pp. 113–123. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2018.07.049>.
104. Cao T.N.-D., Mukhtar H., Le L.-T., Tran D.P.-H., Ngo M.T.T., Pham M.-D.-T., Nguyen T.-B., Vo T.-K.-Q., Bui X.-T. Roles of microalgae-based biofertilizer in sustainability of green agriculture and food-water-energy security nexus. *Sci. Total Environ.*, 2023, vol. 870, art. 161927. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.161927>.
105. Castro J.D.S., Calijuri M.L., Ferreira J., Assemany P.P., Ribeiro V.J. Microalgae based biofertilizer: A life cycle approach. *Sci. Total Environ.*, 2020, vol. 724, art. 138138. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138138>.
106. Khan S.A., Sharma G.K., Malla F.A., Kumar A., Rashmi, Gupta N. Microalgae based biofertilizers: A biorefinery approach to phycoremediate wastewater and harvest biodiesel and manure. *J. Cleaner Prod.*, 2019, vol. 211, pp. 1412–1419. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.11.281>.
107. Park Y.H., Han S.-I., Oh B., Kim H.S., Jeon M.S., Kim S., Choi Y.-E. Microalgal secondary metabolite productions as a component of biorefinery: A review. *Bioresour. Technol.*, 2022, vol. 344, pt. A, art. 126206. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126206>.
108. Rico M., Gonzalez A.G., Santana-Casiano M., Gonzalez-Davila M., Perez-Almeida N., de Tangil M.S. Production of primary and secondary metabolites using algae. In: Tripathi B.N., Kumar D. (Eds.) *Prospects and Challenges in Algal Biotechnology*. Singapore, Springer, 2017, pp. 311–326. https://doi.org/10.1007/978-981-10-1950-0_12.
109. Muys M., Sui Y., Schwaiger B., Lesueur C., Vandenheuvel D., Vermeir P., Vlaeminck S.E. High variability in nutritional value and safety of commercially available *Chlorella* and *Spirulina* biomass indicates the need for smart production strategies. *Bioresour. Technol.*, 2019, vol. 275, pp. 247–257. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.12.059>.

110. Barka A., Blecker C. Microalgae as a potential source of single-cell proteins. A review. *Biotechnol., Agron., Soc. Environ.*, 2016, vol. 20, no. 3, pp. 427–436. <https://doi.org/10.25518/1780-4507.13132>.
111. Ritala A., Häkkinen S.T., Toivari M., Wiebe M.G. Single cell protein – state-of-the-art, industrial landscape and patents 2001–2016. *Front. Microbiol.*, 2017, vol. 8, art. 2009. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02009>.
112. Abiusi F., Fernandez P.M., Canziani S., Janssen M., Wijffels R.H., Barbosa M. Mixotrophic cultivation of *Galdieria sulphuraria* for C-phycocyanin and protein production. *Algal Res.*, 2022, vol. 61, art. 102603. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102603>.
113. Mishra N., Gupta E., Singh P., Prasad R. Chapter 22 – Application of microalgae metabolites in food and pharmaceutical industry. In: Egbuna C., Mishra A.P., Goyal M.R. (Eds.) *Preparation of Phytopharmaceuticals for the Management of Disorders. The Development of Nutraceuticals and Traditional Medicine*. Oxford, Acad. Press, 2020, pp. 391–408. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820284-5.00005-8>.
114. Sui Y., Muys M., Vermeir P., D’Adamo S., Vlaeminck S.E. Light regime and growth phase affect the microalgal production of protein quantity and quality with *Dunaliella salina*. *Bioresour. Technol.*, 2019, vol. 275, pp. 145–152. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.12.046>.
115. Sui Y., Vlaeminck S.E. Effects of salinity, pH and growth phase on the protein productivity by *Dunaliella salina*. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 2018, vol. 94, no. 4, pp. 1032–1040. <https://doi.org/10.1002/jctb.5850>.
116. Eze C.N., Onyejiaka C.K., Ihim S.A., Ayoka T.O., Aduba C.C., Ndukwue J.K., Nwaiwu O., Onyeaka H. Bioactive compounds by microalgae and potentials for the management of some human disease conditions. *AIMS Microbiol.*, 2023, vol. 9, no. 1, pp. 55–74. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2023004>.
117. Zhou L., Li K., Duan X., Hill D., Barrow C., Dunshea F., Martin G., Suleria H. Bioactive compounds in microalgae and their potential health benefits. *Food Biosci.*, 2022, vol. 49, art. 101932. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101932>.
118. Yen H.-W., Hu I.-C., Chen C.-Y., Ho S.-H., Lee D.-J., Chang J.-S. Microalgae-based biorefinery – from biofuels to natural products. *Bioresour. Technol.*, 2013, vol. 135, pp. 166–174. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.099>.
119. John R.P., Anisha G.S., Nampoothiri K.M., Pandey A. Micro and macroalgal biomass: A renewable source for bioethanol. *Bioresour. Technol.*, 2011, vol. 102, no. 1, pp. 186–193. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.139>.
120. Chochois V., Dauville D., Beyly A., Tolleter D., Cuine S., Timpano H., Ball S., Cournac L., Peltier G. Hydrogen production in *Chlamydomonas*: Photosystem II-dependent and -independent pathways differ in their requirement for starch metabolism. *Plant Physiol.*, 2009, vol. 151, no. 2, pp. 631–640. <https://doi.org/10.1104/pp.109.144576>.
121. Arad S.M., Levy-Ontman O. Red microalgal cell-wall polysaccharides: Biotechnological aspects. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 2010, vol. 21, no. 3, pp. 358–364. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2010.02.008>.
122. Rajpoot A.S., Choudhary T., Chelladurai H., Verma T.N., Shende V. A comprehensive review on bioplastic production from microalgae. *Mater. Today: Proc.*, 2022, vol. 56, pt. 1, pp. 171–178. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.01.060>.
123. Cao K., Cui Y., Sun F., Zhang H., Fan J., Ge B., Cao Y., Wang X., Zhu X., Wei Z., Yao Q., Ma J., Wang Y., Meng C., Gao Z. Metabolic engineering and synthetic biology strategies for producing high-value natural pigments in Microalgae. *Biotechnol. Adv.*, 2023, vol. 68, art. 108236. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2023.108236>.
124. Milledge J.J. Commercial application of microalgae other than as biofuels: A brief review. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.*, 2011, vol. 10, no. 1, pp. 31–41. <https://doi.org/10.1007/s11157-010-9214-7>.
125. Xiao F.-G., Shen L., Ji H.-F. On photoprotective mechanisms of carotenoids in light harvesting complex. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2011, vol. 414, no. 1, pp. 1–4. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.09.049>.
126. Levasseur W., Perre P., Pozzobon V. A review of high value-added molecules production by microalgae in light of the classification. *Biotechnol. Adv.*, 2020, vol. 41, art. 107545. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107545>.

127. Özçimen D., Inan B. An overview of bioethanol production from algae. In: Biernat K. (Ed.) *Biofuel – Status and Perspective*. InTech, 2015, pp. 141–162. <http://dx.doi.org/10.5772/59305>.
128. Liang Y., Kashdan T., Sterner C., Dombrowski L., Petrick I., Kröger M., Höfer R. Chapter 2 – Algal biorefineries. In: Pandey A., Höfer R., Taherzadeh M., Nampoothiri K.M., Larroche C. (Eds.) *Industrial Biorefineries & White Biotechnology*. Elsevier, 2015, pp. 35–90. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63453-5.00002-1>.
129. Sinha R.P., Pathak J., Rajneesh, Ahmed H., Pandey A., Singh P.R., Mishra S., Häder D.-P. Chapter 5 – Cyanobacterial photoprotective compounds: Characterization and utilization in human welfare. In: Sinha R.P., Häder D.-P. (Eds.) *Natural Bioactive Compounds*. Acad. Press, 2020, pp. 83–114. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820655-3.00005-7>.
130. Moreau R.A., Whitaker B.D., Hicks K.B. Phytosterols, phytostanols, and their conjugates in foods: Structural diversity, quantitative analysis, and health-promoting uses. *Prog. Lipid Res.*, 2002, vol. 41, no. 6, pp. 457–500. [https://doi.org/10.1016/S0163-7827\(02\)00006-1](https://doi.org/10.1016/S0163-7827(02)00006-1).
131. Randhir A., Laird D.W., Maker G., Trengove R., Moheimani N.R. Microalgae: A potential sustainable commercial source of sterols. *Algal Res.*, 2020, vol. 46, art. 101772. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101772>.
132. Chowdhury H., Loganathan B. Third-generation biofuels from microalgae: A review. *Curr. Opin. Green Sustainable Chem.*, 2019, vol. 20, pp. 39–44. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2019.09.003>.
133. Razzak S.A., Lucky R.A., Hossain M.M., deLasa H. Valorization of microalgae biomass to biofuel production: A review. *Energy Nexus*, 2022, vol. 7, art. 100139. <https://doi.org/10.1016/j.nexus.2022.100139>.
134. Adekunle A.S., Oyekunle J.A.O., Oduwale A.I., Owootomo Y., Obisesan O.R., Elugoke S.E., Durodola S.S., Akintunde S.B., Oluwafemi O.S. Biodiesel potential of used vegetable oils transesterified with biological catalysts. *Energy Rep.*, 2020, vol. 6, pp. 2861–2871. <https://doi.org/10.1016/j.egy.2020.10.019>.
135. Aragones M.M., Dominguez C.G., Ondrejčková P., Torralvo F.A. Bioenergy production side-streams availability assessment as decision making driver for sustainable valorisation technologies development. Case study: Bioethanol and biodiesel industries. *Energy Rep.*, 2022, vol. 8, pp. 6856–6865. <https://doi.org/10.1016/j.egy.2022.05.030>.
136. Sajid Z., Khan F., Zhang Y. Process simulation and life cycle analysis of biodiesel production. *Renewable Energy*, 2016, vol. 85, pp. 945–952. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2015.07.046>.
137. Hidalgo P., Toro C., Ciudad G., Navia R. Advances in direct transesterification of microalgal biomass for biodiesel production. *Rev. Environ. Sci. Bio/Technol.*, 2013, vol. 12, no. S2, pp. 179–199. <https://doi.org/10.1007/s11157-013-9308-0>.
138. Li X., Xu H., Wu Q. Large-scale biodiesel production from microalga *Chlorella protothecoides* through heterotrophic cultivation in bioreactors. *Biotechnol. Bioeng.*, 2007, vol. 98, no. 4, pp. 764–771. <https://doi.org/10.1002/bit.21489>.
139. Lai J.-Q., Hu Z.-L., Wang P.-W., Yang Z. Enzymatic production of microalgal biodiesel in ionic liquid [BMIm][PF₆]. *Fuel*, 2012, vol. 95, pp. 329–333. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2011.11.001>.
140. Miao X., Wu Q. Biodiesel production from heterotrophic microalgal oil. *Bioresour. Technol.*, 2006, vol. 97, no. 6, pp. 841–846. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.04.008>.
141. Vijayaraghavan K., Hemanathan K. Biodiesel production from freshwater algae. *Energy Fuels*, 2009, vol. 23, no. 11, pp. 5448–5453. <https://doi.org/10.1021/ef9006033>.
142. Hossain A., Salleh A., Boyce A.N., Chowdhury P., Naqiuddin M. Biodiesel fuel production from algae as renewable energy. *Am. J. Biochem. Biotechnol.*, 2008, vol. 4, no. 3, pp. 250–254. <https://doi.org/10.3844/AJBBS.2008.250.254>.
143. Teo S.H., Islam A., Yusaf T., Taufiq-Yap Y.H. Transesterification of *Nannochloropsis oculata* microalga's oil to biodiesel using calcium methoxide catalyst. *Energy*, 2014, vol. 78, pp. 63–71. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2014.07.045>.
144. Umdu E.S., Tuncer M., Seker E. Transesterification of *Nannochloropsis oculata* microalga's lipid to biodiesel on Al₂O₃ supported CaO and MgO catalysts. *Bioresour. Technol.*, 2009, vol. 100, no. 11, pp. 2828–2831. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.12.027>.

145. Kim K.H., Lee O.K., Kim C.H., Seo J.-W., Oh B.-R., Lee E.Y. Lipase-catalyzed *in-situ* biosynthesis of glycerol-free biodiesel from heterotrophic microalgae, *Aurantiochytrium* sp. KRS101 biomass. *Bioresour. Technol.*, 2016, vol. 211, pp. 472–477. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.03.092>.
146. Hidalgo P., Ciudad G., Schober S., Mittelbach M., Navia R. Biodiesel synthesis by direct transesterification of microalga *Botryococcus braunii* with continuous methanol reflux. *Bioresour. Technol.*, 2015, vol. 181, pp. 32–39. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.01.047>.
147. Chen C.-L., Huang C.-C., Ho K.-C., Hsiao P.-X., Wu M.-S., Chang J.-S. Biodiesel production from wet microalgae feedstock using sequential wet extraction/transesterification and direct transesterification processes. *Bioresour. Technol.*, 2015, vol. 194, pp. 179–186. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.07.021>.
148. Ehimen E.A., Sun Z.F., Carrington C.G. Variables affecting the in situ transesterification of microalgal lipids. *Fuel*, 2010, vol. 89, no. 3, pp. 677–684. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2009.10.011>.
149. Lee J.W.Y., Chia W.Y., Ong W.-J., Cheah W.-Y., Lim S.S., Chew K.W. Advances in catalytic transesterification routes for biodiesel production using microalgae. *Sustainable Energy Technol. Assess.*, 2022, vol. 52, pt. D, art. 102336. <https://doi.org/10.1016/j.seta.2022.102336>.
150. Levine R.B., Pinnarat T., Savage P.E. Biodiesel production from wet algal biomass through in situ lipid hydrolysis and supercritical transesterification. *Energy Fuels*, 2010, vol. 24, no. 9, pp. 5235–5243. <https://doi.org/10.1021/ef1008314>.
151. Suh W.I., Mishra S.K., Kim T.-H., Farooq W., Moon M., Shrivastav A., Park M.S., Yang J.-W. Direct transesterification of wet microalgal biomass for preparation of biodiesel. *Algal Res.*, 2015, vol. 12, pp. 405–411. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.10.006>.
152. Im H., Kim B., Lee J.W. Concurrent production of biodiesel and chemicals through wet in situ transesterification of microalgae. *Bioresour. Technol.*, 2015, vol. 193, pp. 386–392. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.06.122>.
153. Jafari A., Esmaeilzadeh F., Mowla D., Sadatshojaei E., Heidari S., Wood D.A. New insights to direct conversion of wet microalgae impregnated with ethanol to biodiesel exploiting extraction with supercritical carbon dioxide. *Fuel*, 2021, vol. 285, art. 119199. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.119199>.
154. Wahidin S., Idris A., Shaleh S.R.M. Ionic liquid as a promising biobased green solvent in combination with microwave irradiation for direct biodiesel production. *Bioresour. Technol.*, 2016, vol. 206, pp. 150–154. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.01.084>.
155. De Farias Silva C.E., Bertucco A. Bioethanol from microalgae and cyanobacteria: A review and technological outlook. *Process Biochem.*, 2016, vol. 51, no. 11, pp. 1833–1842. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2016.02.016>.
156. Vergara-Fernandez A., Vargas G., Alarcon N., Velasco A. Evaluation of marine algae as a source of biogas in a two-stage anaerobic reactor system. *Biomass Bioenergy*, 2008, vol. 32, no. 4, pp. 338–344. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2007.10.005>.
157. Bajwa K., Bishnoi N.R., Baloch M.Y.J., Kumar S.P.J. Advancement in algal biomass based biobutanol production technologies and research trends. In: Singh A., Kothari R., Bajar S., Tyagi V.V. (Eds.). *Sustainable Butanol Biofuels*. CRC Press, 2023, pp. 182–198. <https://doi.org/10.1201/9781003165408>.
158. Hossain N., Hasan M.H., Mahlia T.M.I., Shamsuddin A.H., Silitonga A.S. Feasibility of microalgae as feedstock for alternative fuel in Malaysia: A review. *Energy Strategy Rev.*, 2020, vol. 32, art. 100536. <https://doi.org/10.1016/j.esr.2020.100536>.
159. Hu Y., Gong M., Feng S., Xu C.C., Bassi A. A review of recent developments of pre-treatment technologies and hydrothermal liquefaction of microalgae for bio-crude oil production. *Renewable Sustainable Energy Rev.*, 2019, vol. 101, pp. 476–492. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.11.037>.
160. Guo Y., Yeh T., Song W., Xu D., Wang S. A review of bio-oil production from hydrothermal liquefaction of algae. *Renewable Sustainable Energy Rev.*, 2015, vol. 48, pp. 776–790. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.04.049>.
161. Suntivarakorn R., Treedet W., Singbua P., Teeramaetawat N. Fast pyrolysis from Napier grass for pyrolysis oil production by using circulating fluidized bed reactor: Improvement of pyrolysis system and production cost. *Energy Rep.*, 2018, vol. 4, pp. 565–575. <https://doi.org/10.1016/j.egy.2018.08.004>.
162. Brown T.M., Duan P., Savage P.E. Hydrothermal liquefaction and gasification of *Nannochloropsis* sp. *Energy Fuels*, 2010, vol. 24, no. 6, pp. 3639–3646. <https://doi.org/10.1021/ef100203u>.

163. Martinez-Villarreal S., Breitenstein A., Nimmegeers P., Saura P.P., Hai B., Asomaning J., Eslami A.A., Billen P., Van Passel S., Bressler D.C., Debecker D.P., Remacle C., Richel A. Drop-in biofuels production from microalgae to hydrocarbons: Microalgal cultivation and harvesting, conversion pathways, economics and prospects for aviation. *Biomass Bioenergy*, 2022, vol. 165, art. 106555. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2022.106555>.
164. Mahmudul H.M., Rasul M.G., Akbar D., Narayanan R., Mofijur M. A comprehensive review of the recent development and challenges of a solar-assisted biodigester system. *Sci. Total Environ.*, 2021, vol. 753, art. 141920. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141920>.
165. Passos F., Mota C., Donoso-Bravo A., Astals S., Jeison D., Muñoz R. Biofuels from microalgae: Bio-methane. In: Jacob-Lopes E., Zepka L.Q., Queiroz M.I. (Eds.) *Energy from Microalgae*. Springer, Cham, 2018, pp. 247–270. https://doi.org/10.1007/978-3-319-69093-3_12.
166. Gonzalez-Fernandez C., Sialve B., Molinuevo-Salces B. Anaerobic digestion of microalgal biomass: Challenges, opportunities and research needs. *Bioresour. Technol.*, 2015, vol. 198, pp. 896–906. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.09.095>.
167. Chandrasekhar K., Raj T., Ramanaiah S.V., Kumar G., Banu J.R., Varjani S., Sharma P., Pandey A., Kumar S., Kim S.-H. Algae biorefinery: A promising approach to promote microalgae industry and waste utilization. *J. Biotechnol.*, 2022, vol. 345, pp. 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2021.12.008>.
168. Ali S.S., Mastropetros S.G., Schagerl M., Sakarika M., Elsamahy T., El-Sheekh M., Sun J., Kornaros M. Recent advances in wastewater microalgae-based biofuels production: A state-of-the-art review. *Energy Rep.*, 2022, vol. 8, pp. 13253–13280. <https://doi.org/10.1016/j.egy.2022.09.143>.
169. Kaparapu J. Polyhydroxyalkanoate (PHA) production by genetically engineered microalgae: A review. *J. New Biol. Rep.*, 2018, vol. 7, no. 2, pp. 68–73.
170. Raza Z.A., Abid S., Banat I.M. Polyhydroxyalkanoates: Characteristics, production, recent developments and applications. *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, 2018, vol. 126, pp. 45–56. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.10.001>.
171. Balaji S., Gopi K., Muthuvelan B. A review on production of poly β hydroxybutyrates from cyanobacteria for the production of bio plastics. *Algal Res.*, 2013, vol. 2, no. 3, pp. 278–285. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2013.03.002>.
172. Cassuriaga A.P.A., Freitas B.C.B., Morais M.G., Costa J.A.V. Innovative polyhydroxybutyrate production by *Chlorella fusca* grown with pentoses. *Bioresour. Technol.*, 2018, vol. 265, pp. 456–463. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.06.026>.
173. Kiselev E.G., Shishatskii O.N., Sinskey A.J. Techniques and technologies of degradable polyhydroxyalkanoates production. *Zh. Sib. Fed. Univ. Biol.*, 2012, vol. 5, no. 3, pp. 300–310. <https://doi.org/10.17516/1997-1389-0136>. (In Russian)
174. Kartik A., Akhil D., Lakshmi D., Gopinath K.P., Arun J., Sivaramakrishnan R., Pugazhendhi A. A critical review on production of biopolymers from algae biomass and their applications. *Bioresour. Technol.*, 2021, vol. 329, art. 124868. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124868>.

Для цитирования: Глазунова Д.М., Галицкая П.Ю., Селивановская С.Ю. Секвестрация углерода атмосферы с использованием микроводорослей // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2024. Т. 166, кн. 1. С. 82–125. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.1.82-125>.

For citation: Glazunova D.M., Galitskaya P.Yu., Selivanovskaya S.Yu. Atmospheric carbon sequestration using microalgae. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2024, vol. 166, no. 1, pp. 82–125. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.1.82-125>. (In Russian)

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

УДК 551.583

doi: 10.26907/2542-064X.2024.1.126-144

ПРОСТРАНСТВЕННО-ВРЕМЕННАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ БИОКЛИМАТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА ЦЕНТРАЛЬНОГО ЧЕРНОЗЕМЬЯ

Ж.А. Буряк, О.В. Крымская, А.А. Крымская, Э.А. Терехин

*Белгородский государственный национальный исследовательский университет,
г. Белгород, 308015, Россия*

Аннотация

Исследование посвящено анализу биоклиматического потенциала (БКП) (по С.А. Сапожниковой) и агроклиматических характеристик территории Центрального Черноземья (включая Орловскую область) и выявлению пространственно-временных тенденций их изменчивости с 1980 по 2021 г. В начале XXI в. по сравнению с концом XX в. установлен повсеместный рост БКП на 10%, сумм активных температур – на 13%, продолжительности периода активной вегетации – на 6%. Установлено смещение поясов сумм активных температур и гидротермического коэффициента (ГТК). Изотерма 3000 °С сместилась к северу и проходит по Белгородской и Воронежской областям. По гидротермическим условиям значительная часть Центрального Черноземья перешла из зоны обеспеченного увлажнения ($1.3 \geq \text{ГТК} > 1$) в статус засушливой зоны ($1 \geq \text{ГТК} > 0.7$). В целом для Центрального Черноземья рост БКП сопряжен с существенным увеличением сумм активных температур при определенном снижении влагообеспеченности.

Ключевые слова: бонитет климата, ГТК, теплообеспеченность, коэффициент увлажнения, изменения климата, пространственная модель, географическая информационная система (ГИС), Центрально-Черноземный район.

Введение

На фоне глобальной тенденции к потеплению климата [1] на территории России рост среднегодовых температур происходит примерно в 3 раза интенсивнее [2] – на 0.49 °С за 10 лет. Вместе с этим происходит изменение агроклиматических условий и биоклиматического потенциала территории [3]. Неблагоприятным следствием глобального потепления для сельскохозяйственного растениеводства является повышение засушливости климата на значительной территории России. В земледельческой зоне страны за последние 20 лет повсеместно растет теплообеспеченность периода активной вегетации сельскохозяйственных культур на фоне увеличения его продолжительности. По прогнозам на основе различных климатических сценариев [4], к концу XXI в. при общем росте биоклиматического потенциала ожидается снижение продуктивности культур из-за засушливости на 16–18%. Также наблюдается рост экстремальных гидрометеорологических явлений, представляющих опасность в том числе для сельского хозяйства [5]. На Европейской

территории России растет частота атмосферных засух [6], прогнозируется дальнейший рост аридизации юга земледельческой зоны страны [7]. Увеличение частоты засух наблюдается не только в регионах с прогнозируемым снижением количества осадков, но и в областях, где количество осадков растет [8]. С другой стороны, на фоне общего снижения осадков теплого периода для лесостепной зоны Европейской территории России увеличивается повторяемость эрозионно-опасных ливней [9], что усиливает риск развития водной эрозии почв – главной угрозы деградации сельскохозяйственных земель страны.

Скорость изменения агроклиматических условий может быть настолько стремительной, что сама концепция статического агроклиматического районирования может потерять свою актуальность из-за постоянных перемен [10]. Отмечаемые климатические изменения диктуют настоятельную необходимость разработки долгосрочного агроэкономического планирования и его учета в государственной сельскохозяйственной политике страны для обеспечения успешной адаптации агропроизводителей к новым условиям растениеводства. Для прогнозирования урожайности культур и оценки рисков ведения сельского хозяйства по всему миру разрабатываются специализированные модели агроклиматических условий [11], например, «Климат–Почва–Урожай» для России [12, 13], *AgriClim* для Центральной Европы [10] и др. Использование глобальных моделей климатических изменений (например, из числа моделей *CMIP6*) при определенной калибровке достаточно надежно воспроизводит пространственные особенности распределения агроклиматических характеристик [14, 15]. Математическое моделирование позволяет рассчитать вероятность наступления неблагоприятных метеорологических ситуаций и дать обоснованный прогноз состояния агроклиматических ресурсов [16], помогающий своевременно принять меры по адаптации сельского хозяйства к глобальным изменениям климата и повысить его устойчивость.

Пространственный анализ климатических условий, особенно для обширной площади России, дополняет общую картину их изменений во времени, позволяет более глубоко понять механизмы пространственных закономерностей этого процесса. Под задачи пространственного климатического моделирования разрабатываются географические информационно-вычислительные системы локального и глобального уровней [17, 18]. Геоинформационные технологии являются необходимым инструментом научных исследований и для агроклиматологии, находя все большее применение в прикладных региональных отечественных исследованиях и агроклиматическом мониторинге [19–21].

Целью данного исследования является анализ биоклиматического потенциала и агроклиматических характеристик территории Центрального Черноземья (включая Орловскую область) и выявление пространственно-временных тенденций их изменчивости.

1. Материалы и методы

1.1. Территория исследования и источники данных. Анализ изменчивости биоклиматического потенциала проводили для шести областей юга Центральной России – Орловской, Липецкой, Тамбовской, Курской, Белгородской,

Воронежской, основная часть которых входит в Центрально-Черноземный экономический район страны (рис. 1). Далее при упоминании о нем мы будем употреблять обобщающее название «Центральное Черноземье».

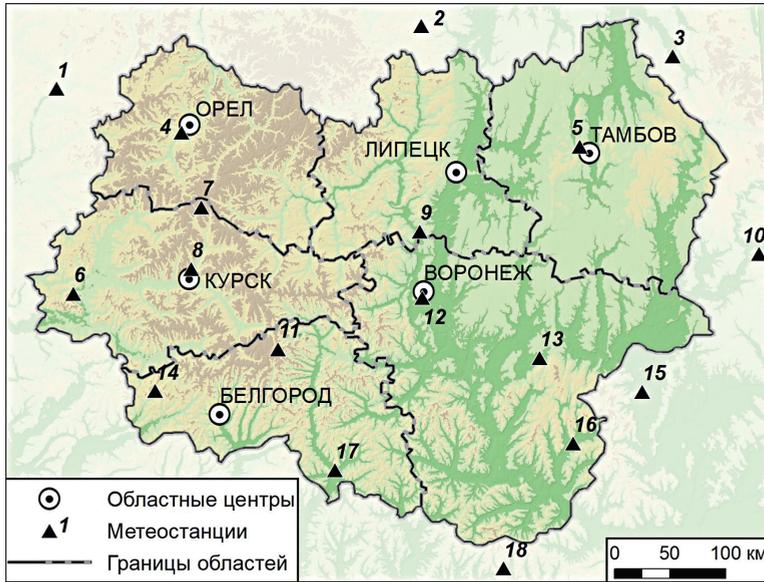


Рис. 1. Территория исследования. Номерами обозначены метеостанции: 1 – Брянск город; 2 – Павелец; 3 – Земетчино; 4 – Орел; 5 – Тамбов; 6 – Рыльск; 7 – Поньжи; 8 – Курск; 9 – Конь-Колодезь; 10 – Росташи; 11 – Богородицкое-Фенино; 12 – Воронеж город; 13 – Каменная Степь; 14 – Готня; 15 – Урюпинск; 16 – Калач; 17 – Валуйки; 18 – Чертково

Исследуемые области входят в число передовых аграрных регионов страны, обладают уникальными почвенно-климатическими ресурсами, обеспечивающими стабильное производство конкурентоспособной сельскохозяйственной продукции. Занимая площадь 192.5 тыс. км² (примерно 1% от территории страны), они включают 13% всех посевных площадей, входят в двадчатку лидеров по урожайности зерновых и технических культур и приносят значительную часть дохода от растениеводства страны [23]. В среднем в структуре посевных площадей наибольшая доля приходится на зерновые и зернобобовые культуры (~58%) [24]. Перечисленные факторы определяют ключевую роль Центрального Черноземья в аграрном секторе страны и важность мониторинга агроклиматических условий региона.

Территория исследования расположена в средней и южной частях Среднерусской возвышенности и на Окско-Донской равнине в условиях умеренно-континентального климата. Для региона характерна высокая доля сельскохозяйственных угодий и доля пашни, которая составляет более 50% общей площади [25]. Территория характеризуется разнообразием сочетаний природных и антропогенных факторов, влияющих на структуру, степень сельскохозяйственной освоенности, способность к самовосстановлению ландшафтов региона.

Для Центрального Черноземья меридиональная южная климатическая эпоха (с 1998 г. по настоящее время) характеризуется наибольшей нестабильностью внутригодового режима осадков с тенденцией их дефицита в летний период и участвовавшей повторяемостью метеорологических экстремумов [26].

Информационной основой исследования выступали открытые данные суточных наблюдений за температурой воздуха и атмосферными осадками в 1980–2021 гг. [27] для 12 метеорологических станций сети Росгидромета в пределах территории исследования. Для корректной интерполяции и пространственного анализа были привлечены данные еще 6 соседних метеостанций. В полученном массиве метеоданных для трех метеостанций (Конь-Колодезь, Калач и Павелец) были обнаружены пропуски по количеству осадков за 1–3 месяца в 1980, 1981, 1991 и 1995 гг. Ряды были восстановлены по ближайшим объектам-аналогам (при коэффициенте корреляции временных рядов более 0.7) с использованием линейной регрессионной модели.

1.2. Агроклиматические показатели и биоклиматический потенциал.

Обеспечение продовольственной безопасности страны в рамках реализации национального проекта по развитию агропромышленного комплекса невозможно без объективной оценки общей потенциальной продуктивности земли, формирующейся в первую очередь под влиянием температуры, увлажнения и инсоляции. Показатель, характеризующий это понятие, был назван П.И. Колосковым [28] биоклиматическим потенциалом (БКП).

Оценке продуктивности природных условий с учетом климата, почв и рельефа в различных сочетаниях посвящены работы многих отечественных агроклиматологов. Стоит отметить, что понятие «биоклиматический потенциал» не является устоявшимся. Разными авторами даются различные варианты данного термина и его трактовки: «биоклиматический потенциал» [28, 29], «сельскохозяйственный бонитет климата» [30], «сельскохозяйственная продуктивность климата» [31], «сельскохозяйственный потенциал климата» [32] и др.

БКП составляет система агроклиматических и агрометеорологических показателей (теплообеспеченность, увлажненность, неблагоприятные явления). Он может быть выражен количественно в виде балла или объема продукции на единицу площади, характеризующего потенциальную биологическую продуктивность агроэкосистем (климатически обусловленную урожайность). Существуют различные методики расчета балла БКП. Так, он может быть выражен через статистическую меру близости неограниченного набора агроклиматических показателей [33] или рассчитан по определенному соотношению показателей по заданным формулам [29, 30].

В настоящей работе для оценки сельскохозяйственной продуктивности климата выбран показатель, разработанный С.А. Сапожниковой [30]. Комплексное влияние тепло- и влагообеспеченности на урожайность зерновых культур учитывается с помощью показателя сельскохозяйственного бонитета климата (биоклиматического потенциала) (B_k), который количественно равен условному урожаю яровых зерновых культур при данном сочетании тепла и влаги. При этом величина БКП (в баллах) определяется произведением суммы активных температур за период вегетации и бонитировочного балла увлажнения и рассчитывается по формуле 1:

$$B_k = 0.01 \times \varepsilon \times \sum T_{10}, \quad (1)$$

где ε – бонитировочный балл увлажнения, количественно равный осредненной урожайности тех же культур (в ц/га), приходящейся на единицу обеспеченного

теплом периода ($\sum T_{10} = 100 \text{ }^\circ\text{C}$) при данном увлажнении, $\sum T_{10}$ – сумма активных температур за период со среднесуточной температурой выше $10 \text{ }^\circ\text{C}$.

Значение ε определяется на основании коэффициента увлажнения (КУ):

$$\varepsilon = -1.7\text{КУ}^2 + 3.7\text{КУ} - 0.28 \quad (2)$$

$$\text{КУ} = \frac{0.5P_x + P_T}{0.18\sum T_{10}}, \quad (3)$$

где P_x и P_T – сумма осадков холодного и теплого периодов года, а $0.18\sum T_{10}$ – испаряемость за год (по работе [34]).

Выбор именно этой методики среди других вариантов расчета БКП обусловлен несколькими причинами. Во-первых, в отличие от методики расчета БКП по Д.И. Шашко [29], где используются средние суточные значения дефицита влажности воздуха, отсутствующие в свободном доступе, B_k определяется по данным о температуре воздуха и осадках суточной размерности, имеющимся по всем выбранным метеостанциям региона исследования. Во-вторых, КУ учитывает осадки теплого и холодного периодов, но последние входят с меньшим удельным весом. Это обстоятельство выгодно отличает метод оценки влагообеспеченности по С.А. Сапожниковой от гидротермического коэффициента Селянинова, где учитываются только осадки периода активной вегетации, и метода Шашко, в котором для этого сопоставляются годовые суммы осадков и суммы средних суточных значений дефицита влажности воздуха. Также в основу расчета B_k положена оценка тепло- и влагообеспеченности урожая зерновых культур, составляющих основу продовольственной безопасности России.

Условия увлажнения дополнительно оценивали с помощью других показателей: индекса сухости Будыко (ИС) и гидротермического коэффициента Селянинова (ГТК):

$$\text{ИС} = \frac{0.8\sum T_{10}}{P} \quad (4)$$

$$\text{ГТК} = \frac{P_{10}}{0.1\sum T_{10}}, \quad (5)$$

где P – сумма годовых осадков, P_{10} – сумма осадков за период со среднесуточной температурой выше $10 \text{ }^\circ\text{C}$.

Для расчетов был написан макрос на языке *VBA MS Excel*, который рассчитывает даты устойчивого перехода среднесуточной температуры воздуха через $0 \text{ }^\circ\text{C}$ (начало весны, начало зимы), $5 \text{ }^\circ\text{C}$ (начало и конец периода вегетации), $10 \text{ }^\circ\text{C}$ (начало и конец периода активной вегетации), $15 \text{ }^\circ\text{C}$ (начало и конец лета), суммы активных температур, суммы осадков за год и период активной вегетации, ГТК и ИС.

Картографирование и пространственный анализ выполнены с использованием программного обеспечения *ArcGIS* (ESRI, США), включая модули *Spatial Analyst* и *Geostatistical Analyst*. Для интерполяции точечных данных использовали метод сплайна с натяжением. Расчет средневзвешенных значений агроклиматических параметров для отдельных областей Центрального Черноземья выполнен с использованием зональной статистики растров интерполированных значений этих показателей.

2. Результаты

2.1. Временная изменчивость. Биоклиматический потенциал региона на основной продолжительности анализируемого периода характеризовался отчетливой тенденцией к росту (рис. 2). С начала 1980-х гг. БКП в среднем увеличивался на 1 балл в 10 лет. С 2015 г. темпы роста БКП стабилизировались, а за последние три года наблюдалось снижение этого параметра до уровня начала 2000-х гг.

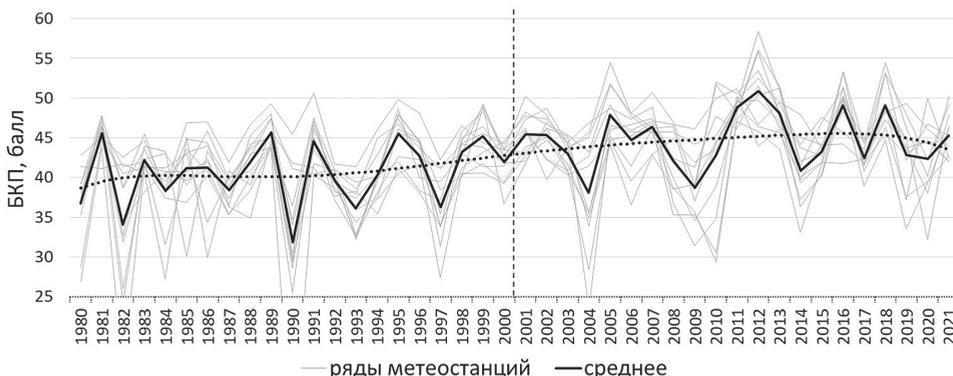


Рис. 2. Динамика биоклиматического потенциала Центрального Черноземья в 1980–2021 гг.

Разностная интегральная кривая БКП (рис. 3), показывающая накопленное отклонение от среднего значения, с 2001 г. меняет свое направление, что говорит об изменении характера процесса роста. Дисперсионный анализ двух полученных выборок (I – 1980–2000 гг. и II – 2001–2021 гг.) показывает достоверные отличия их БКП ($p \ll 0.05$) со средними значениями 40.6 ± 1.9 и 44.6 ± 2.3 соответственно. Между рассматриваемыми периодами БКП вырос на 10%.

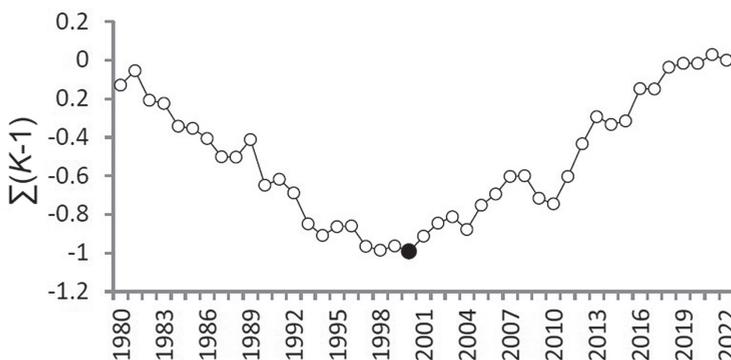


Рис. 3. Разностная интегральная кривая биоклиматического потенциала

Параметры теплообеспеченности и увлажненности вносят разный весомый вклад в расчет БКП – он в 14 раз более чувствителен к изменению суммы активных температур, нежели к режиму осадков. Согласно методике расчета B_k (1–3), при росте ΣT_{10} на 10% B_k увеличивается на столько же, а при аналогичном росте КУ – лишь на 0.7%. Поэтому были проанализированы изменения по выделенным периодам как составляющих БКП, так и отдельных агроклиматических показателей (табл. 1).

Табл. 1

Изменчивость агроклиматических характеристик с 1980–2000 гг. по 2001–2021 гг.

Показатель	Среднее значение				Периоды отличаются	<i>p</i> -значение (< 0.05)
	40 лет	1980–2000	2001–2021	Δ , %		
ΣT_{10} , °C	2489 ± 154	2329 ± 151	2856 ± 159	+13	да	4×10^{-5}
P_{10} , мм	274 ± 27	277 ± 31	271 ± 25	-2	нет	0.89
N_{10} , дни	163 ± 6	159 ± 7	168 ± 6	+6	да	7×10^{-4}
B_k , балл	42.8 ± 1.9	40.6 ± 1.9	44.6 ± 2.3	+10	да	1×10^{-4}
КУ	0.95 ± 0.13	1.03 ± 0.15	0.87 ± 0.12	-15	да	0.009
ГТК	1.07 ± 0.15	1.35 ± 0.18	0.96 ± 0.12	-18	да	0.002
ИС	0.88 ± 0.13	0.82 ± 0.14	0.93 ± 0.13	+15	да, незначительно	0.04

Обозначения: ΣT_{10} – сумма активных температур, P_{10} – сумма осадков за период активных температур, N_{10} – продолжительность периода активных температур, B_k – биоклиматический потенциал, КУ – коэффициент увлажнения по Сапожниковой, ГТК – гидротермический коэффициент, ИС – индекс сухости.

Режим осадков за период активной вегетации в рассматриваемом временном интервале не имел устойчивого тренда к изменению (коэффициент детерминации $R^2 = 0.03$), средние значения по выделенным периодам существенно не отличаются. Внутригодовое распределение осадков также не показывает долгосрочных тенденций к временному изменению. Можно отметить, что за последние 10 лет наблюдается снижение доли осадков теплого периода по сравнению с холодным на 8%, что согласуется с общими оценками для Центрального федерального округа [2].

Установлена наиболее сильная связь изменения БКП с ростом суммы активных температур (коэффициент детерминации $R^2 = 0.42$) (рис. 4). Для сравниваемых периодов ΣT_{10} выросли на 13%, а продолжительность периода активной вегетации – на 9 дней. Это привело к росту биоклиматического потенциала на 10% и снижению КУ и ГТК на 15 и 18% соответственно. По гидротермическим условиям значительная часть Центрального Черноземья перешла из зоны обеспеченного увлажнения ($1.3 \geq \text{ГТК} > 1$) в статус засушливой зоны ($1 \geq \text{ГТК} > 0.7$).

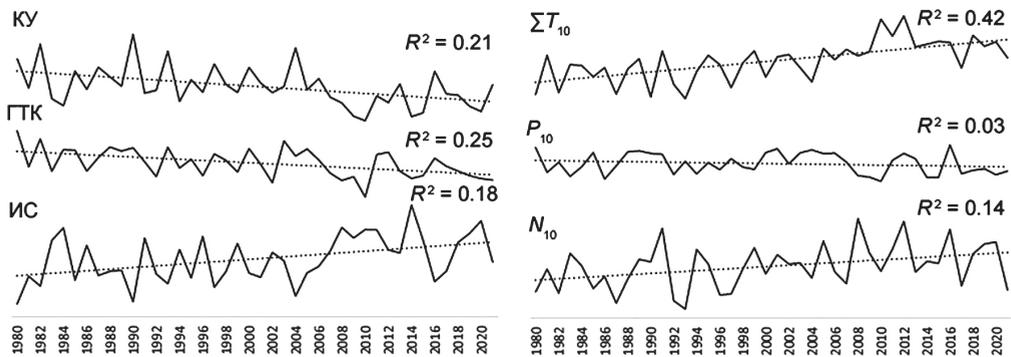


Рис. 4. Изменчивость агроклиматических параметров во времени (нормализованные значения). КУ – коэффициент увлажнения по Сапожниковой, ГТК – гидротермический коэффициент, ИС – индекс сухости, ΣT_{10} – сумма активных температур, P_{10} – сумма осадков за период активных температур, N_{10} – продолжительность периода активных температур

2.2. Пространственная изменчивость. Большинство агроклиматических показателей по средним значениям для Центрального Черноземья демонстрируют выраженные тренды изменения во времени (см. табл. 1, рис. 4). Анализ этих трендов по отдельным метеостанциям региона исследования показывает согласованные однонаправленные пространственные изменения по всем параметрам, кроме осадков. Однако величины изменений могут существенно отличаться, достигая для отдельных метеостанций 20%. Распределение показателей по областям Центрального Черноземья представлено в табл. 2. В пределах изучаемой территории наблюдается неоднородность распределения условий теплообеспеченности и увлажненности, которую лучше всего отражает картографирование.

На рис. 5 представлено сравнение особенностей распределения БКП, осредненного за разные периоды.

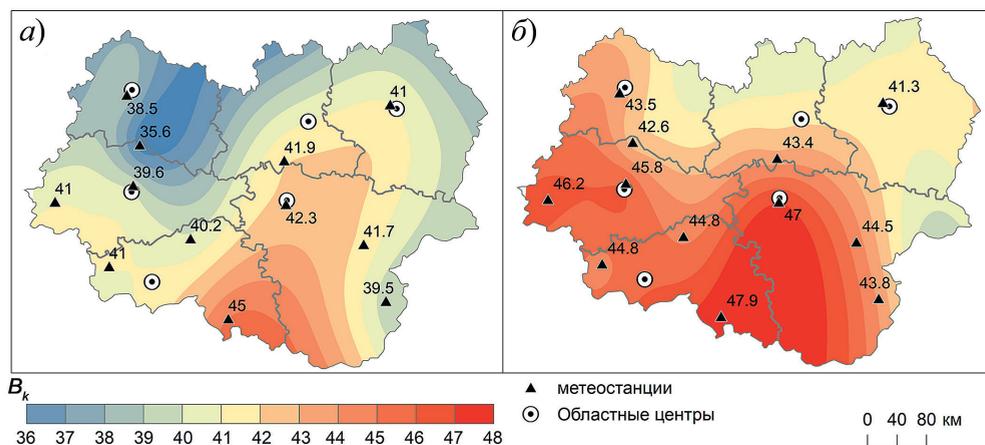


Рис. 5. Пространственное распределение биоклиматического потенциала (B_k) в Центральном Черноземье: а) в 1980–2000 гг.; б) в 2001–2021 гг.

Наблюдается не только повсеместный рост БКП, но и изменение его пространственного тренда. В период 1980–2000 гг. рост БКП происходил по территории Центрального Черноземья в юго-восточном направлении на 7–8 баллов. В следующие 20 лет направление роста БКП сменилось на юго-западное, в Воронежской области изменчивость БКП возросла на 25%, в Тамбовской, наоборот, приобрела более равномерный характер распределения. К началу 2020-х гг. в южных областях средний балл БКП равнялся 45.4, в северных – 42.1. Наибольший рост БКП наблюдался в Орловской и Курской областях – на 13%, наименьший, в среднем на 4%, – в Тамбовской.

Суммы активных температур также показывают повсеместный рост на 9–15% (рис. 6, а). В западной части исследуемой территории рост происходит интенсивнее. К настоящему времени изотерма 3000 °С сместилась к северу и проходит по Белгородской и Воронежской областям. Ближе к их южным границам ΣT_{10} превышает 3200 °С. Средняя продолжительность периода активной вегетации для Белгородской и Воронежской областей превысила 170 дней, а в среднем по территории этот период увеличился на 6%. Причем для северных областей прирост идет активнее, «выравнивая» продолжительность периода активной вегетации для всего региона (рис. 6, б).

Табл. 2

Изменение агроклиматических показателей* по периодам для областей Центрального Черноземья

Область	$\Sigma T_{10}, ^\circ\text{C}$		$P_{10}, \text{мм}$		$N_{10}, \text{дни}$		$B_k, \text{балл}$		КУ		ГТК		ИС	
	I**	II**	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
		$\Delta, \%$		$\Delta, \%$		$\Delta, \%$		$\Delta, \%$		$\Delta, \%$		$\Delta, \%$		$\Delta, \%$
Белгородская	2621	2961	268	276	167	175	42.3	46.4	0.99	0.86	1.1	0.97	0.84	0.94
		+13	+3	+5	+6	+8	+10	+13	-13	-14	-15	-12	+12	+12
Воронежская	2707	3049	254	260	164	173	41.9	45.1	0.88	0.76	0.99	0.84	0.96	1.07
		+13	+2	+6	+4	+8	+13	+13	-14	-15	-15	-20	+11	+11
Курская	2448	2770	297	287	159	166	39.6	44.7	1.16	0.97	1.31	1.05	0.71	0.83
		+13	-3	+4	+7	+7	+7	+7	-18	-18	-18	-18	+17	+17
Липецкая	2420	2726	259	243	152	162	39.6	42.4	1.03	0.84	1.16	0.95	0.82	0.99
		+13	-6	+7	+7	+7	+7	+7	-18	-18	-18	-18	+21	+21
Орловская	2293	2601	281	282	149	160	37.7	42.7	1.18	1.02	1.37	1.12	0.71	0.8
		+13	0	+7	+7	+7	+7	+7	-14	-14	-14	-18	+13	+13
Тамбовская	2516	2787	243	234	154	165	39.7	41.4	0.94	0.77	1.05	0.88	0.89	1.07
		+11	-4	+7	+7	+7	+7	+7	-18	-18	-16	-16	+20	+20
Среднее значение***	2501	2816	267	264	158	167	40.1	43.8	1.03	0.87	1.16	0.97	0.82	0.95
		+13	-1	+6	+6	+9	+9	+9	-16	-16	-17	-17	+16	+16

Обозначения: * ΣT_{10} – сумма активных температур, P_{10} – сумма осадков за период активных температур, N_{10} – продолжительность периода активных температур, B_k – биоклиматический потенциал, КУ – коэффициент увлажнения по Саложниковой, ГТК – гидротермический коэффициент, ИС – индекс сухости.

** I – период с 1980 по 2000 г., II – период с 2001 по 2021 г. *** Средние значения могут отличаться от представленных в табл. 1 из-за различных методик расчета: для табл. 1 обрабатывались данные метеостанций, а для табл. 2 – данные пространственной интерполяции.

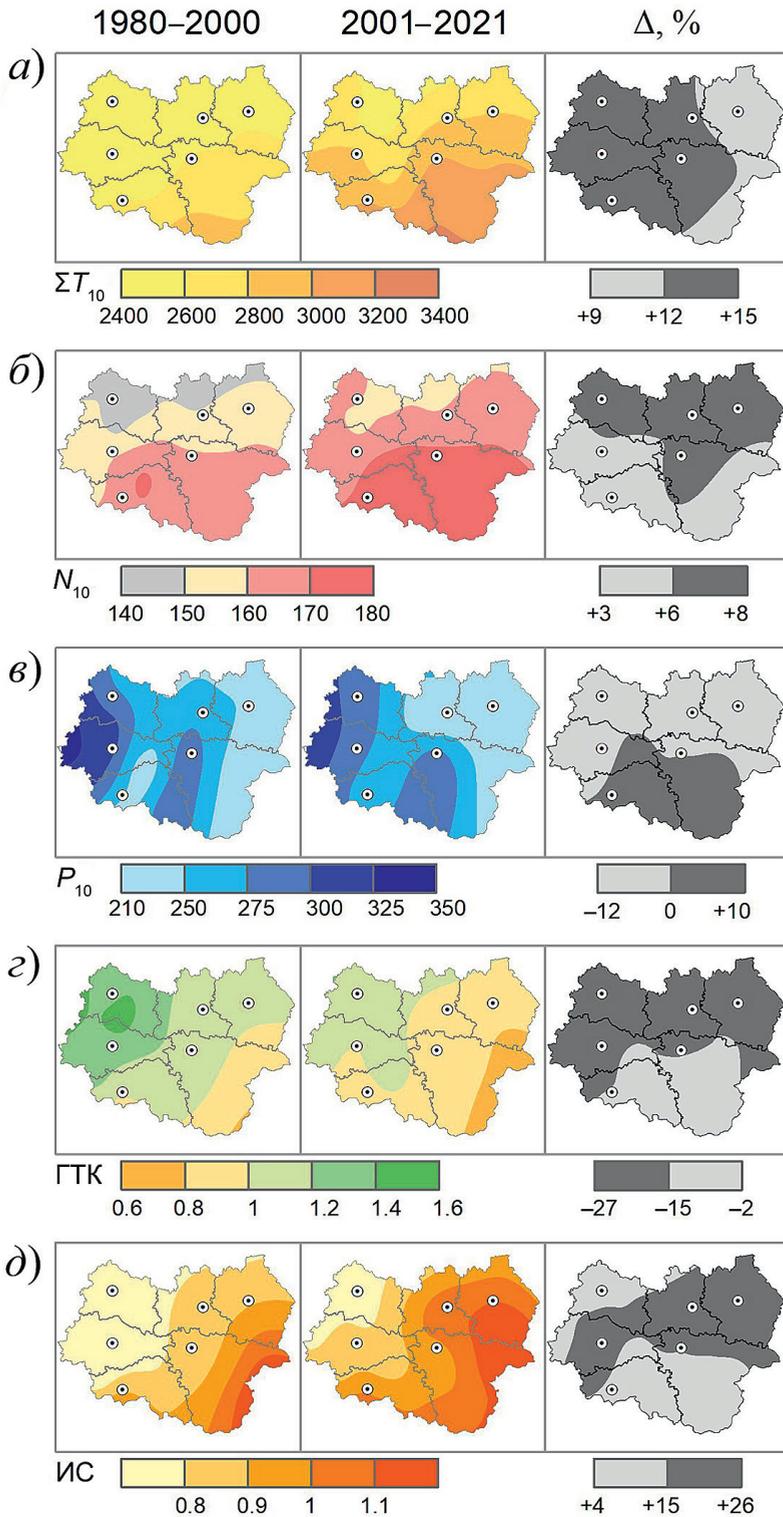


Рис. 6. Пространственная изменчивость агроклиматических параметров: а) суммы температур периода активной вегетации (ΣT_{10}); б) продолжительности периода активной вегетации (N_{10}); в) суммы осадков периода активной вегетации (P_{10}); г) гидротермического коэффициента (ГТК); д) индекса сухости (ИС). Точками обозначены областные центры

Наибольшая пространственная неоднородность характерна для осадков теплого периода (P_{10}) (рис. 6, в). Разница по территории для них варьирует от -12 до $+10\%$. Так, сумма осадков теплого периода в Белгородской области увеличилась на 8 мм ($+3\%$), а в Липецкой снизилась на 16 мм (-6%). В целом для севера Центрального Черноземья характерна тенденция к снижению данного параметра, для юга – к росту. Столь неравномерная изменчивость условий увлажнения может привести к разнонаправленным тенденциям урожайности даже в пределах одного субъекта РФ, не говоря о более обширных территориях.

Гидротермический коэффициент, как и коэффициент увлажнения, повсеместно снижается для всей территории (рис. 6, з). Наиболее быстрое падение ГТК в среднем на $18-20\%$ характерно для Курской, Тамбовской и Липецкой областей. Граница ГТК = 1 за последние двадцать лет сместилась на 200 км к северо-западу. Рост температур привел к смещению поясов ГТК, а изменение увлажненности – к изменению их формы.

Индекс сухости показывает самый высокий прирост по территории – в среднем на 16% . В целом по пространственной картине он довольно близок к распределению ГТК и увеличивается с северо-запада на юго-восток, но изменчивость по территории у него выше (рис. 6, д). Наибольший рост наблюдается в Липецкой, Тамбовской и Курской областях за счет изменения формы «поясов» этого показателя. Самыми засушливыми по-прежнему остаются Воронежская и Тамбовская области. За последние 20 лет $ИС > 1$ наблюдается уже на большей части их территорий.

3. Обсуждение

Географическое положение России обуславливает существенное влияние глобальных и локальных климатических условий на урожайность и валовые сборы основных сельскохозяйственных культур. На территории Центрального Черноземья на основе полученных результатов отмечен повсеместный рост БКП (по работе [30]) в среднем на 10% . Это согласуется с прогнозной оценкой для земледельческой зоны России [4], исходя из которой по ансамблевому варианту климатических изменений рост БКП в первой трети XXI в. вырастет на 8% . Согласно официальной статистике, средняя урожайность основных зерновых и зернобобовых культур для исследуемой территории показывает стабильный рост – за последние 20 лет она увеличилась в 2.2 раза [23, 24].

Однако рост урожайности далеко не всегда является прямым следствием увеличения БКП и благоприятности агроклиматических условий. На исследуемой территории рост БКП сопряжен с разнонаправленным изменением условий тепло- и влагообеспеченности – существенным ростом сумм активных температур при снижении осадков вегетационного периода для $1/2$ территории. Поскольку выбранная нами методика расчета БКП имеет большую чувствительность к изменениям термических условий, балл B_k может недостаточно полно отражать изменчивую специфику условий увлажнения вегетационного периода, которые в исследуемом регионе в значительной мере определяют продуктивность большинства культур.

В исследовании [35] для Европейской части России установлены негативные агроклиматические тенденции, приводящие к снижению климатически

обусловленной урожайности. Положительные тенденции фактической урожайности объясняются авторами успешной адаптацией систем землепользования к изменению климата. В первую очередь негативное влияние агроклиматических факторов компенсируется внесением удобрений [36]. За последние 20 лет объем вносимых минеральных удобрений в Центральном Черноземье вырос в 4.9 раза, а органических – в 3.5 раза [23].

По средним оценкам для Центрального федерального округа [2] с 1976 по 2021 г. скорость роста суммы активных температур $>10\text{ }^{\circ}\text{C}$ составляла $121\text{ }^{\circ}\text{C}/10$ лет. Это согласуется с нашими оценками скоростей для юга Центрального федерального округа в $132\text{ }^{\circ}\text{C}/10$ лет. Ранее в работе [37] прогнозировалось, что для территории Центральной Европы сочетание повышения температуры воздуха с изменением количества и распределения осадков приведет к удлинению вегетационного периода и значительным сдвигам агроклиматических зон. Этот прогноз подтверждается и настоящим исследованием регионального характера, где установлено активное смещение поясов сумм активных температур и ГТК.

Столь стремительный рост температур ведет к засушливости и негативным изменениям теплового режима вегетационного периода, особенно для зерновых культур. Установлено, что для территории исследования засушливый гидротермический режим во время посева озимой пшеницы чреват снижением ее урожайности в 1.3–1.5 раза [38]. В засушливые годы последнего десятилетия потери урожайности яровой пшеницы составили от 35 до 50% [5]. С другой стороны, термические условия будут выступать как дополнительные ресурсы тепла при производстве особо ценных и дефицитных для России теплолюбивых культур – кукурузы, сои, подсолнечника и др.

Таким образом, говорить об установленной нами для Центрального Черноземья тенденции роста БКП в исключительно положительном ключе не корректно. Рост теплообеспеченности, несомненно, способствует росту сельскохозяйственного потенциала территории. Однако при дефиците увлажнения, который отмечается нами для исследуемой территории, на фоне повышения температур растут климатические риски, связанные с недостатком увлажнения почвы. Повторяемость засух в Центральном Черноземье сейчас в среднем составляет 10% [20].

Рост БКП территории не только влияет на урожайность сельскохозяйственных культур, но и определяет условия вегетации и продуктивности естественных фитоценозов. Так, в северной лесостепи Центрального Черноземья на фоне повышения теплообеспеченности территории и некоторого снижения ее влагообеспеченности отмечаются положительный тренд лесистости овражно-балочных систем [39] и рост скоростей распространения лесов на бывших лугово-пастбищных угодьях [40].

Заключение

Анализ изменчивости биоклиматического потенциала Центрального Черноземья с 1980 по 2021 г. показал его повсеместный рост в регионе на 10% в первые десятилетия XXI в. в сравнении с последними десятилетиями XX в. Установлена наиболее сильная связь изменения БКП с ростом суммы температур периода активной вегетации ($T > 10\text{ }^{\circ}\text{C}$). В начале XXI в. относительно конца XX в. этот показатель вырос на 13%, а продолжительность периода активной вегетации увеличилась на 9 дней. Простран-

ственное распределение оценок тренда роста БКП показывает различные скорости. Наиболее активные «сдвиги» характерны для западных областей – Орловской, Курской и Белгородской.

Однако не для всего Центрального Черноземья рост БКП является показателем улучшения агроклиматического режима, поскольку для 1/2 территорий он сопряжен со снижением количества осадков вегетационного периода. В целом для Центрального Черноземья степень засушливости растет, о чем свидетельствуют смещения на 200 км к северо-западу изотерм сумм активных температур и рубежа ГТК = 1. Если в конце XX в. в зону обеспеченного увлажнения и выше попадал 81% территории региона, то к 2021 г. эта доля снизилась до 34%.

Благодарности. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-27-00291.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Pörtner H.-O., Roberts D.C., Tignor M.M.B., Polozzanska E., Mintenbeck K., Alegría A., Craig M., Langsdorf S., Löschke S., Möller V., Okem A., Rama B. (Eds.) *Climate Change 2022: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge: Cambridge University Press, 2022. 3056 p. <https://doi.org/10.1017/9781009325844>.
2. Доклад об особенностях климата на территории Российской Федерации за 2021 г. М.: Росгидромет, 2022. 104 с.
3. Иванов А.Л., Кирюшин В.И. Глобальные изменения климата и прогноз рисков в сельском хозяйстве России. М.: Россельхозакадемия, 2009. 518 с.
4. Павлова В.Н. Агроклиматические ресурсы и продуктивность сельского хозяйства России при реализации новых климатических сценариев в XXI в. // Труды Главной геофизической обсерватории имени А.И. Воейкова. 2013. № 569. С. 20–37.
5. Доклад о климатических рисках на территории Российской Федерации / под ред. В.М. Катцова. СПб.: Главная геофизическая обсерватория имени А.И. Воейкова, 2017. 106 с.
6. Глобальный климат и почвенный покров России: проявления засухи, меры предупреждения, борьбы, ликвидация последствий и адаптационные мероприятия (сельское и лесное хозяйство): национальный доклад / под ред. Р.С.-Х. Эдельгериева. М.: Издательство МБА, 2021. Т. 3. 700 с. <https://doi.org/10.52479/978-5-6045103-9-1>.
7. Золотокрылин А.Н., Черенкова Е.А., Туткова Т.Б. Аридизация засушливых земель Европейской части России и связь с засухами // Известия Российской академии наук. Серия географическая. 2020. Вып. 84, № 2. С. 207–217. <https://doi.org/10.31857/S258755662002017X>.
8. Устойчивость земледелия и риски в условиях изменения климата (резюме коллективной монографии) / под ред. А.Л. Иванова, И.Б. Ускова. СПб.: Салезианский центр имени Дона Боско, 2009. 95 с.
9. Chizhikova N., Yermolaev O., Golosov V., Mukharamova S., Saveliev A. Changes in the regime of erosive precipitation on the European part of Russia for the period 1966–2020 // *Geosciences*. 2022. V. 12, No 7. Art. 279. <https://doi.org/10.3390/geosciences12070279>.
10. Trnka M., Eitzinger J., Semerádová D., Hlavinka P., Balek J., Dubrovský M., Kubu G., Štěpánek P., Thaler S., Možný M., Žalud Z. Expected changes in agroclimatic

- conditions in Central Europe // *Clim. Change*. 2011. V. 108, No 1–2. P. 261–289. <https://doi.org/10.1007/s10584-011-0025-9>.
11. *Baier W.* Agroclimatic modeling: An overview: Ch. 6 // Cusack D.F. (Ed.). *Agroclimate Information for Development: Reviving the Green Revolution. Pt. 2: The science and its use. Sect. A: Agroclimatic models and information systems*. New York, NY: Routledge, 2022, pp. 57–82. <https://doi.org/10.4324/9780429049323-11>.
 12. *Израэль Ю.А., Сиротенко О.Д.* Моделирование влияния изменений климата на продуктивность сельского хозяйства России // *Метеорология и гидрология*. 2003. № 6. С. 5–17.
 13. *Сиротенко О.Д., Абашина Е.В., Павлова В.Н.* Динамика климатообусловленных изменений теплообеспеченности, увлажненности и продуктивности сельскохозяйственной зоны России // *Труды ВНИИСХМ*. СПб.: Гидрометеиздат, 2013. Вып. 38. С. 41–53.
 14. *Лемешко Н.А., Евстигнеев В.П., Морозов А.П., Русаков В.А.* Применимость данных МОЦАО для оценки агроклиматических условий отдельных территорий // *Системы контроля окружающей среды*. 2021. Вып. 3, № 45. С. 23–30. <https://doi.org/10.33075/2220-5861-2021-3-23-30>.
 15. *Li Z., Liu W., Ye T., Chen S., Shan H.* Observed and CMIP6 simulated occurrence and intensity of compound agroclimatic extremes over maize harvested areas in China // *Weather Clim. Extremes*. 2022. V. 38. Art. 100503. <https://doi.org/10.1016/j.wace.2022.100503>.
 16. *Жуков В.А., Святкина О.А.* Стохастическое моделирование и прогноз агроклиматических ресурсов при адаптации сельского хозяйства к региональным изменениям климата на территории России // *Метеорология и гидрология*. 2000. № 1. С. 100–109.
 17. *Trouet V., Van Oldenborgh G.J.* KNMI Climate Explorer: A web-based research tool for high-resolution paleoclimatology // *Tree-Ring Res.* 2013. V. 69, No 1. P. 3–13. <https://doi.org/10.3959/1536-1098-69.1.3>.
 18. *Fick S.E., Hijmans R.J.* WorldClim 2: New 1-km spatial resolution climate surfaces for global land areas // *Int. J. Climatol.* 2017. V. 37, No 12. P. 4302–4315. <https://doi.org/10.1002/joc.5086>.
 19. *Шайхулмарданова Л.В., Гурьянов В.В., Переведенцев Ю.П.* Изменение климатических условий на территории Приволжского федерального округа в XIX – XXI вв. // *Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки*. 2018. Т. 160, кн. 3. С. 531–541.
 20. *Павлова В.Н., Караченкова А.А., Варчева С.Е.* Региональный мониторинг агроклиматических условий формирования урожая при изменении климата // *Труды Главной геофизической обсерватории имени А.И. Воейкова*. 2020. № 596. С. 55–77.
 21. *Буряк Ж.А., Терехин Э.А.* Геоинформационное моделирование пространственно-временной изменчивости агроклиматических условий // *Региональные геосистемы*. 2020. Т. 44, № 3. С. 333–342.
 22. *Братков В.В., Савинова С.В., Ключин П.В., Керимов И.А., Бекмурзаева Л.Р.* Картографирование современной изменчивости агроклиматических условий Северного Кавказа // Юг России: экология, развитие. 2021. Вып. 16, № 4. С. 173–181. <https://doi.org/10.18470/1992-1098-2021-4-173-181>.
 23. *Регионы России. Социально-экономические показатели. 2022: стат. сб.* М.: Росстат, 2022. 1122 с.
 24. *Головин А.А., Курасова И.И.* Оценка эффективности управления земельными ресурсами Центрально-Черноземного региона // *Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии*. 2014. № 5. С. 20–24.
 25. *Косолапов В.М., Трофимов И.А., Трофимова Л.С., Яковлева Е.П.* Агрорландшафты Центрального Черноземья. Районирование и управление. М.: Наука, 2015. 198 с.

26. *Petin A.N., Lebedeva M.G., Krymskaya O.V., Chendev Y.G., Kornilov, A. G., Lupo A.R.* Regional manifestations of changes in atmospheric circulation in the Central Black Earth region (by the example of Belgorod region) // *Adv. Environ. Biol.* 2014. V. 8, No 10. P. 544–547.
27. Специализированные массивы данных для климатических исследований // ВНИИГМИ-МЦД. 2000. Вер. 03.08.2023. URL: <http://aisori-m.meteo.ru/waisori>.
28. *Колосков П.И.* О биоклиматическом потенциале и его распределении на территории СССР // *Труды НИИИАК.* 1963. Вып. 23. С. 90–111.
29. *Шашко Д.И.* Агроклиматические ресурсы СССР. Л.: Гидрометеиздат, 1985. 248 с.
30. *Сапожникова С.А.* Опыт интегральной сельскохозяйственной оценки климата территории социалистических стран Европы // *Агроклиматическое районирование пяти основных сельскохозяйственных культур на территории социалистических стран Европы.* София: Издательство Болгарской академии наук, 1976. С. 30–36.
31. *Батталов Ф.З.* Сельскохозяйственная продуктивность климата для яровых зерновых культур. Л.: Гидрометеиздат, 1980. 112 с.
32. *Зоидзе Е.К., Овчаренко Л.И.* Сравнительная оценка сельскохозяйственного потенциала климата территории РФ и степени использования ее агроклиматических ресурсов сельскохозяйственными культурами. СПб.: Гидрометеиздат, 2000. 75 с.
33. *Зоидзе Е.К., Овчаренко Л.И., Чуб О.В.* Методология оценки межгодовой динамики биоклиматического потенциала на территории Российской Федерации в условиях изменения климата // *Метеорология и гидрология.* 2010. № 1. С. 96–110.
34. *Будыко М.И.* Тепловой баланс земной поверхности. Л.: Гидрометеиздат, 1956. 256 с.
35. *Павлова В.Н., Каланка П., Караченкова А.А.* Продуктивность зерновых культур на территории Европейской России при изменении климата за последние десятилетия // *Метеорология и гидрология.* 2020. № 1. С. 78–94.
36. *Gordeev R.V., Pyzhev A.I., Zander E.V.* Does climate change influence Russian agriculture? Evidence from panel data analysis // *Sustainability.* 2022. V. 14, No 2. Art. 718. <https://doi.org/10.3390/su14020718>.
37. *Trnka M., Rötter R., Ruiz-Ramos M., Kersebaum K.C., Olesen J.E., Žalud Z., Semenov M.A.* Adverse weather conditions for European wheat production will become more frequent with climate change // *Nature Clim. Change.* 2014. V. 4, No 7. P. 637–643. <https://doi.org/10.1038/nclimate2242>.
38. *Гуреев И.И., Нитченко Л.Б., Лукьянов В.А., Прущик И.А.* Урожайность озимой пшеницы и плодородие почвы в условиях Центрально-Черноземного региона // *Достижения науки и техники АПК.* 2021. Вып. 35, № 5. С. 22–27. <https://doi.org/10.24411/0235-2451-2021-10503>.
39. *Терехин Э.А.* Изменение внутризональных различий в естественном растительном покрове ландшафтов лесостепи в конце XX – начале XXI в. // *Современные проблемы дистанционного зондирования Земли из космоса.* 2022. Т. 19, № 1. С. 179–192. <https://doi.org/10.21046/2070-7401-2022-19-1-179-192>.
40. *Chendev Y.G., Hubbart J.A., Terekhin E.A., Lupo A.R., Sauer T.J., Burras C.L.* Recent afforestation in the Iowa River and Vorskla River basins: A comparative trends analysis // *Forests.* 2016. V. 7, No 11. Art. 278. <https://doi.org/10.3390/f7110278>.

Буряк Жанна Аркадьевна, кандидат географических наук, старший научный сотрудник отдела геоинформатики Федерально-регионального центра аэрокосмического и наземного мониторинга объектов и природных ресурсов

Белгородский государственный национальный исследовательский университет
ул. Победы, д. 85, г. Белгород, 308015, Россия
E-mail: buryak@bsu.edu.ru

Крымская Ольга Владимировна, кандидат географических наук, доцент кафедры географии, геоэкологии и безопасности жизнедеятельности Института наук о Земле

Белгородский государственный национальный исследовательский университет
ул. Победы, д. 85, г. Белгород, 308015, Россия
E-mail: krymskaya@bsu.edu.ru

Крымская Анна Александровна, ассистент кафедры географии, геоэкологии и безопасности жизнедеятельности Института наук о Земле

Белгородский государственный национальный исследовательский университет
ул. Победы, д. 85, г. Белгород, 308015, Россия
E-mail: krymskaya_a@bsu.edu.ru

Терехин Эдгар Аркадьевич, кандидат географических наук, старший научный сотрудник отдела геоинформатики Федерально-регионального центра аэрокосмического и наземного мониторинга объектов и природных ресурсов

Белгородский государственный национальный исследовательский университет
ул. Победы, д. 85, г. Белгород, 308015, Россия
E-mail: terekhin@bsu.edu.ru

ISSN 2542-064X (Print)

ISSN 2500-218X (Online)

UCHENYE ZAPISKI KAZANSKOGO UNIVERSITETA. SERIYA ESTESTVENNYE NAUKI

(Proceedings of Kazan University. Natural Sciences Series)

2024, vol. 166, no. 1, pp. 126–144

ORIGINAL ARTICLE

doi: 10.26907/2542-064X.2024.1.126-144

Spatiotemporal Variability of the Bioclimatic Potential in the Central Chernozem Region

Zh.A. Buryak^{}, O.V. Krymskaya^{**}, A.A. Krymskaya^{***}, E.A. Terekhin^{****}*

Belgorod State University, Belgorod, 308015 Russia

E-mail: ^{*}buryak@bsu.edu.ru, ^{**}krymskaya@bsu.edu.ru, ^{***}krymskaya_a@bsu.edu.ru,
^{****}terekhin@bsu.edu.ru

Received June 30, 2023; Accepted August 12, 2023

Abstract

This article examines the bioclimatic potential (BCP) (according to S.A. Sapozhnikova) and agroclimatic characteristics of the Central Chernozem Region, including the Oryol oblast, with spatiotemporal trends of their variability analyzed from 1980 to 2021. In the early 2000s, compared to the late 20th century, there was a 10% increase in the BCP, a 13% rise in the sum of active temperatures, and a 6% longer active growing season. Furthermore, shifts in the isolines of the sum of active temperatures and the hydrothermal coefficient (HTC) occurred. The active temperature isotherm of 3000°C moved northward, and it is now running through the Belgorod and Voronezh oblast. As a result of the observed hydrothermal conditions, a significant part of the Central Chernozem transitioned from the zone with sufficient moisture ($1.3 \geq \text{HTC} > 1$) to an arid zone ($1 \geq \text{HTC} > 0.7$). The overall growth of the BCP in the Central Chernozem Region can be associated with a considerable rise in the sum of active temperatures and a reduction in moisture supply.

Keywords: climate quality, hydrothermal coefficient, heat supply, moisture coefficient, climate change, spatial model, geographic information system (GIS), Central Chernozem Region

Acknowledgements. This study was supported by the Russian Science Foundation (project no. 22-27-00291).

Conflicts of interest. The authors declare no conflicts of interest.

Figure Captions

Fig. 1. Study area. Weather stations are designated by numbers: 1 – Bryansk; 2 – Pavelets; 3 – Zemetchino; 4 – Oryol; 5 – Tambov; 6 – Rylsk; 7 – Ponyri; 8 – Kursk; 9 – Kon’-Kolodez’; 10 – Rostashi; 11 – Bogoroditskoe-Fenino; 12 – Voronezh; 13 – Kamennaya Steppe; 14 – Gotnya; 15 – Uryupinsk; 16 – Kalach; 17 – Valuyki; 18 – Chertkovo.

Fig. 2. Bioclimatic potential dynamics of the Central Chernozem Region in 1980–2021.

Fig. 3. Difference integral curve of the bioclimatic potential.

Fig. 4. Variability of the agroclimatic parameters over time (normalized values). MC – moisture coefficient according to Sapozhnikova, HTC – hydrothermal coefficient, DI – dryness index, ΣT_{10} – the sum of active temperatures, P_{10} – the sum of precipitation for the period of active temperatures, N_{10} – the length of the period of active temperatures.

Fig. 5. Spatial distribution of the bioclimatic potential (B_k) in the Central Chernozem Region: a) in 1980–2000; b) in 2001–2021.

Fig. 6. Spatial variability of the agroclimatic parameters: a) the sum of temperatures for the active growing season (ΣT_{10}); b) the length of the active growing season (N_{10}); c) the amount of precipitation during the active growing season (P_{10}); d) hydrothermal coefficient (HTC); e) dryness index (DI). The dots indicate the regional centers.

References

1. Pörtner H.-O., Roberts D.C., Tignor M.M.B., Poloskanska E., Mintenbeck K., Alegría A., Craig M., Langsdorf S., Löschke S., Möller V., Okem A., Rama B. (Eds.) *Climate Change 2022: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge, Cambridge Univ. Press, 2022. 3056 p. <https://doi.org/10.1017/9781009325844>.
2. 2021 Climate Report for the Russian Federation. Moscow, Rosgidromet, 2022. 104 p. (In Russian)
3. Ivanov A.L., Kiryushin V.I. *Global'nye izmeneniya klimata i prognoz riskov v sel'skom khozyaistve Rossii* [Global Climate Change and Risk Assessment for Russian Agriculture]. Moscow, Rossel'khozakademiya, 2009. 518 p. (In Russian)
4. Pavlova V.N. The potential of Russia's agroclimatic resources and agricultural productivity to adapt to new climate scenarios in the 21st century. *Tr. Gl. Geofiz. Obs. im. A.I. Voeikova*, 2013, no. 569, pp. 20–37. (In Russian)
5. A Report on Climate Risks in the Russian Federation. Katsov V.M. (Ed.). St. Petersburg, Gl. Geofiz. Obs. im. A.I. Voeikova, 2017. 106 p. (In Russian)
6. Global Climate and Russia's Soil Cover: Signs of Drought, Prevention, Control, Management of Consequences, and Adaptation (Agriculture and Forestry): A National Report. Vol. 3. Edel'geriev R.S.-Kh. (Ed.). Moscow, Izd. MBA, 2021. 700 p. <https://doi.org/10.52479/978-5-6045103-9-1>. (In Russian)
7. Zolotokrylin A.N., Cherenkova E.A., Titkova T.B. Aridization of drylands in the European part of Russia: Secular trends and links to droughts. *Izv. Ross. Akad. Nauk, Ser. Geogr.*, 2020, vol. 84, no. 2, pp. 207–217. <https://doi.org/10.31857/S258755662002017X>. (In Russian)
8. *Ustoichivost' zemledeliya i riski v usloviyakh izmeneniya klimata (rezyume kollektivnoi monografii)* [Agriculture's Sustainability and Its Resilience to Climate Change Risks (An Abstract of a Joint Monograph)]. Ivanov A.L., Uskov I.B. (Eds.). St. Petersburg, NOU NPO Salez. Tsentr “Don Bosko”, 2009. 95 p. (In Russian)
9. Chizhikova N., Yermolaev O., Golosov V., Mukharamova S., Saveliev A. Changes in the regime of erosive precipitation on the European part of Russia for the period 1966–2020. *Geosciences*, 2022, vol. 12, no. 7, art. 279. <https://doi.org/10.3390/geosciences12070279>.

10. Trnka M., Eitzinger J., Semerádová D., Hlavinka P., Balek J., Dubrovský M., Kubu G., Štěpánek P., Thaler S., Možný M., Žalud Z. Expected changes in agroclimatic conditions in Central Europe. *Clim. Change*, 2011, vol. 108, nos. 1–2, pp. 261–289. <https://doi.org/10.1007/s10584-011-0025-9>.
11. Baier W. Agroclimatic modeling: An overview. Ch. 6. In: Cusack D.F. (Ed.) *Agroclimate Information for Development: Reviving the Green Revolution*. Pt. 2: The science and its use. Sect. A: Agroclimatic models and information systems. New York, NY, Routledge, 2022, pp. 57–82. <https://doi.org/10.4324/9780429049323-11>.
12. Izrael Yu.A., Sirotenko O.D. Modeling climate change impact on Russian agriculture productivity. *Russ. Meteorol. Hydrol.*, 2003, no. 6, pp. 1–11.
13. Sirotenko O.D., Abashina E.V., Pavlova V.N. Dynamics of climate-induced changes in heat supply, humidity, and productivity of the Russian agricultural zone. In: *Trudy VNNISKhm* [Proceedings of the All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology]. St. Petersburg, Gidrometeoizdat, 2013, vol. 38, pp. 41–53. (In Russian)
14. Lemeshko N.A., Evstigneev V.P., Morozov A.P., Rusakov V.A. Using AOGCM data to evaluate the agroclimatic characteristics of individual areas. *Sist. Kontrol'ya Okruzh. Sredy*, 2021, vol. 3, no. 45, pp. 23–30. <https://doi.org/10.33075/2220-5861-2021-3-23-30>. (In Russian)
15. Li Z., Liu W., Ye T., Chen S., Shan H. Observed and CMIP6 simulated occurrence and intensity of compound agroclimatic extremes over maize harvested areas in China. *Weather Clim. Extremes*, 2022, vol. 38, art. 100503. <https://doi.org/10.1016/j.wace.2022.100503>.
16. Zhukov V.A., Svyatkina O.A. Stochastic modeling and forecasting of agroclimatic resources with adaptation of agriculture to regional climate changes in Russia. *Russ. Meteorol. Hydrol.*, 2000, vol. 1, pp. 72–79.
17. Trouet V., Van Oldenborgh G.J. KNMI Climate Explorer: A web-based research tool for high-resolution paleoclimatology. *Tree-Ring Res.*, 2013, vol. 69, no. 1, pp. 3–13. <https://doi.org/10.3959/1536-1098-69.1.3>.
18. Fick S.E., Hijmans R.J. WorldClim 2: New 1-km spatial resolution climate surfaces for global land areas. *Int. J. Climatol.*, 2017, vol. 37, no. 12, pp. 4302–4315. <https://doi.org/10.1002/joc.5086>.
19. Shaikhulmardanova L.V., Guryanov V.V., Perevedentsev Yu.P. Changes in the climate conditions of the Volga Federal District during the 19th–21st centuries. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2018, vol. 160, no. 3, pp. 531–541. (In Russian)
20. Pavlova V.N., Karachenkova A.A., Varcheva S.E. Monitoring the agroclimatic conditions of crop development at the regional level in the era of climate change. *Tr. Gl. Geofiz. Obs. im. A.I. Voeikova*, 2020, no. 596, pp. 55–77. (In Russian)
21. Buryak Z.A., Terekhin E.A. Geoinformation modeling of spatiotemporal variability of agroclimatic conditions. *Reg. Geosist.*, 2020, vol. 44, no. 3, pp. 333–342. (In Russian)
22. Bratkov V.V., Savinova S.V., Klyushin P.V., Kerimov I.A., Bekmurzaeva L.R. Mapping of the modern variability of agroclimatic conditions in the North Caucasus. *Yug Ross.: Ekol., Razvit.*, 2021, vol. 16, no. 4, pp. 173–181. <https://doi.org/10.18470/1992-1098-2021-4-173-181>. (In Russian)
23. *Regiony Rossii. Sotsial'no-ekonomicheskie pokazateli. 2022: Stat. sb.* [Regions of Russia. Socio-Economic Indicators. 2022: A Statistical Digest]. Moscow, Rosstat, 2022. 1122 p. (In Russian)
24. Golovin A.A., Kurasova I.I. Measuring the effectiveness of land management in the Central Black Earth Region. *Vestn. Kursk. Gos. S-kh. Akad.*, 2014, no. 5, pp. 20–24. (In Russian)
25. Kosolapov V.M., Trofimov I.A., Trofimova L.S., Yakovleva E.P. *Agrolandshafty Tsentral'nogo Chernozem'ya. Raionirovanie i upravlenie* [Agrolandscapes of the Central Black Earth Region. Zoning and Management]. Moscow, Nauka, 2015. 198 p. (In Russian)
26. Petin A.N., Lebedeva M.G., Krymskaya O.V., Chendev Y.G., Kornilov, A. G., Lupo A.R. Regional manifestations of changes in atmospheric circulation in the Central Black Earth region (by the example of Belgorod region). *Adv. Environ. Biol.*, 2014, vol. 8, no. 10, p. 544–547.
27. Specialized arrays for climate research. All-Russian Research Institute of Hydrometeorological Information – World Data Center, 2000, ver. 03.08.2023. URL: <http://aisori-m.meteo.ru/waisori/>. (In Russian)

28. Koloskov P.I. The bioclimatic potential and how it varies across the territory of the USSR. *Tr. NIIAK*, 1963, vol. 23, pp. 90–111. (In Russian)
29. Shashko D.I. *Agroklimaticheskie resursy SSSR* [Agroclimatic Resources of the USSR]. Leningrad, Gidrometeoizdat, 1985. 248 p. (In Russian)
30. Sapozhnikova S.A. Integrated agricultural assessment of the climate situation in the European socialist countries. In: *Agroklimaticheskoe raionirovanie pyati osnovnykh sel'skokhozyaystvennykh kul'tur na territorii sotsialisticheskikh stran Evropy* [Agroclimatic Zoning of Five Primary Agricultural Crops in the European Socialist Countries]. Sofia, Izd. Bolg. Akad. Nauk, 1976, pp. 30–36. (In Russian)
31. Battalov F.Z. *Sel'skokhozyaystvennaya produktivnost' klimata dlya yarovykh zernovykh kul'tur* [Agricultural Productivity of the Climate for Spring Crops]. Leningrad, Gidrometeoizdat, 1980. 112 p. (In Russian)
32. Zoidze E.K., Ovcharenko L.I. *Sravnitel'naya otsenka sel'skokhozyaystvennogo potentsiala klimata territorii RF i stepeni ispol'zovaniya ee agroklimaticheskikh resursov sel'skokhozyaystvennymi kul'turami* [A Comparative Assessment of the Agricultural Potential of the Climate in the Russian Federation and the Degree to Which Its Agroclimatic Resources are Used by Agricultural Crops]. St. Petersburg, Gidrometeoizdat, 2000. 75 p. (In Russian)
33. Zoidze E.K., Ovcharenko L.I., Chub O.V. Methodology of assessing interannual dynamics of bioclimatic potential under climate change conditions. *Russ. Meteorol. Hydrol.*, 2010, vol. 35, no. 1, pp. 68–77. <https://doi.org/10.3103/S1068373910010103>.
34. Budyko M.I. *Teplovoi balans zemnoi poverkhnosti* [Thermal Balance of the Earth Surface]. Leningrad, Gidrometeoizdat, 1956. 256 p. (In Russian)
35. Pavlova V.N., Calanca P., Karachenkova A.A. Grain crops productivity in the European part of Russia under recent climate change. *Russ. Meteorol. Hydrol.*, 2020, vol. 45, no. 4, pp. 290–302. <https://doi.org/10.3103/S106837392004010X>.
36. Gordeev R.V., Pyzhev A.I., Zander E.V. Does climate change influence Russian agriculture? Evidence from panel data analysis. *Sustainability*, 2022, vol. 14, no. 2, art. 718. <https://doi.org/10.3390/su14020718>.
37. Trnka M., Rötter R., Ruiz-Ramos M., Kersebaum K.C., Olesen J.E., Žalud Z., Semenov M.A. Adverse weather conditions for European wheat production will become more frequent with climate change. *Nat. Clim. Change*, 2014, vol. 4, no. 7, pp. 637–643. <https://doi.org/10.1038/nclimate2242>.
38. Gureev I.I., Nitchenko L.B., Luk'yanov V.A., Pruschik I.A. Winter wheat yield and soil fertility under the conditions of the Central Chernozem Region. *Dostizh. Nauki Tekh. APK*, 2021, vol. 35, no. 5, pp. 22–27. <https://doi.org/10.24411/0235-2451-2021-10503>. (In Russian)
39. Terekhin E.A. Changes in intrazonal differences in the natural vegetation cover of forest-steppe landscapes in the late 20th and early 21th century. *Sovrem. Probl. Distantionnogo Zondirovaniya Zemli Kosmosa*, 2022, vol. 19, no. 1, pp. 179–192. <https://doi.org/10.21046/2070-7401-2022-19-1-179-192>. (In Russian)
40. Chendev Y.G., Hubbart J.A., Terekhin E.A., Lupo A.R., Sauer T.J., Burras C.L. Recent afforestation in the Iowa River and Vorskla River basins: A comparative trends analysis. *Forests*, 2016, vol. 7, no. 11, art. 278. <https://doi.org/10.3390/f7110278>.

Для цитирования: Буряк Ж.А., Крымская О.В., Крымская А.А., Терехин Э.А. Пространственно-временная изменчивость биоклиматического потенциала Центрального Черноземья // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2024. Т. 166, кн. 1. С. 126–144. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.1.126-144>.

For citation: Buryak Zh.A., Krymskaya O.V., Krymskaya A.A., Terekhin E.A. Spatiotemporal variability of the bioclimatic potential in the Central Chernozem region. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2024, vol. 166, no. 1, pp. 126–144. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.1.126-144>. (In Russian)

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

УДК 552.524+551.736.3+551.83+551.7.022.4 doi: 10.26907/2542-064X.2024.1.145-168

ПЕДОКОМПЛЕКСЫ УРЖУМСКИХ ОТЛОЖЕНИЙ КАЗАНСКОГО ПОВОЛЖЬЯ (ВОСТОЧНАЯ ЕВРОПА): ПРИМЕР ПАЛЕОКЛИМАТА И ПАЛЕОЛАНДШАФТОВ СУБТРОПИКОВ КОНТИНЕНТАЛЬНОЙ ПАНГЕИ В СРЕДНЕЙ ПЕРМИ

Ф.А. Муравьев, Т.В. Кропотова, Б.И. Гареев, Г.А. Баталин
Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, 420008, Россия

Аннотация

В работе приведены результаты исследования палеопочвенных профилей разреза уржумского яруса, расположенного на правом берегу Волги в районе д. Гребени, комплексом полевых и лабораторных методов. Выявлено два палеопочвенных профиля, развитых на красноцветных глинистых алевролитах. По педогенным признакам (почвенным горизонтам, карбонатным нодулям, сликенсайдам и др.) палеопочвы классифицируются как вертик кальцисоли высокой степени зрелости, по этим признакам реконструируется сезонно-влажный теплый климат. Среднегодовое количество осадков позднеуржумского времени, рассчитанное по геохимическим индикаторам палеопочв, составило 522 мм/год. Современными аналогами этих палеопочв можно считать красно-бурые почвы сухих субтропиков Средиземноморья или Австралии.

Верхний палеопочвенный профиль представляет собой педокомплекс, состоящий из четырех самостоятельных почв, разделенных в средней части непедогенными прослоями карбонатных пород. В строении педокомплекса выделены один озерно-болотный и два озерно-плайевых седиментационных микроритма, которые указывают на обстановки озерно-аллювиальных равнин и позволяют оценивать длительность его формирования от тысяч до десятков тысяч лет.

В верхней части уржумских отложений опорного разреза в овраге Черемушка выявлен схожий по строению педокомплекс. Минералогический, химический и гранулометрический состав силикокластики обоих педокомплексов, а также изотопный состав педогенных нодулей показали большое сходство. Биостратиграфическое положение педокомплекса оврага Черемушка позволяет считать его одновозрастным педокомплексу разреза Гребени, проводить их прямую корреляцию и использовать в качестве педостратиграфического маркера. Предлагается дать название этому маркирующему горизонту «педокомплекс малиновых глин».

Ключевые слова: палеопочва, педокомплекс, уржумский ярус, корреляция, изотопы углерода и кислорода, геосоль.

Введение

В среднепермскую эпоху территория Казанского Поволжья представляла собой обширный внутриконтинентальный мелководный бассейн в полосе субтропического климата северной части суперконтинента Пангея. Это время

характеризуется началом масштабных климатических, палеогеографических и биотических изменений, которые привели к массовому вымиранию в конце пермского периода. Палеоклиматические и палеогеографические реконструкции для данной территории носят в основном обобщенный характер и требуют большей детализации. Этим обусловлена актуальность данной работы.

Казанское Поволжье является парастратотипической местностью для континентальных отложений уржумского и северодвинского ярусов пермской системы [1, 2]. В этих отложениях встречаются слои пород, измененные почвообразовательными процессами, или палеопочвы [3, 4]. Значение палеопочв в разрезах осадочных пород континентального генезиса велико, их изучение дополняет палеонтологическую характеристику пород. Состав, строение и характер залегания палеопочв позволяет восстанавливать палеоландшафтные и палеоклиматические условия [4], оценивать длительность процессов педогенеза, которая определяется длительностью перерывов в осадконакоплении [3]. Это, в свою очередь, позволяет выявлять границы седиментационных ритмов и использовать их для корреляции разновозрастных отложений.

До начала 2000-х гг. пермские палеопочвы в Казанском Поволжье детально не описывались и не изучались в ходе геологических работ. Первое описание и классификация распространенных типов палеопочв пермских красноцветных пород Казанского Поволжья были сделаны С.В. Наугольных и др. [5, 6], при этом главное внимание было уделено палеопочвам на карбонатных осадках, или кальциевым литосолям [6]. Палеопочвы на красноцветных алевритоглинистых осадках классифицировались этими авторами как элювиально-иллювиальные глейсоли и палеолесситы [5]. Детальное описание красноцветных палеопочв опорного разреза уржумского и северодвинского ярусов пермской системы Монастырского оврага и вмещающих пород было выполнено в работах [7–10]. Уржумские палеопочвы были классифицированы как вертисоли и кальцисоли [7, 10], по педогенным признакам которых был реконструирован полуаридный переменнo-влажный климат [9, 10]. По особенностям залегания почвовмещающих пород выявлены палеогеографические условия плоских озерно-аллювиальных равнин [8]. Такие же исследования проведены в парастратотипическом разрезе уржумского яруса оврага Черемушка [7, 11, 12]. В обоих разрезах выполнены изотопно-геохимические исследования педогенных и осадочных карбонатов, выделены изотопно-геохимические циклы [9, 12, 13]. По особенностям залегания пород были также выделены седиментационные циклы, границы которых часто проводились по поверхностям палеопочв [8, 12, 13]. В работе [14] впервые предпринята попытка корреляции уржумских педокомплексов Монастырского оврага и оврага Черемушка на основе сравнения минералогических, педогенных и геохимических признаков, а также стратиграфического положения в разрезах. По геохимическим признакам педокомплексов оценено среднегодовое количество осадков для верхнеуржумского времени, которое составило около 400 мм/год [10, 14].

В разрезе Гребени, расположенном в 30 км южнее Казани на правом берегу Волги [2] (рис. 1, *a–e*), вскрывается нижняя часть уржумских отложений, в которых С.В. Наугольных выявлены и кратко описаны палеопочвы на карбонатных

озерных осадках [5]. Здесь им выделено два уровня известняков мощностью по 0.1 м с корнями *in situ*, оставшимися, предположительно, от членистостебельных растений *Paracalamitina* гидрофильных ассоциаций [5].

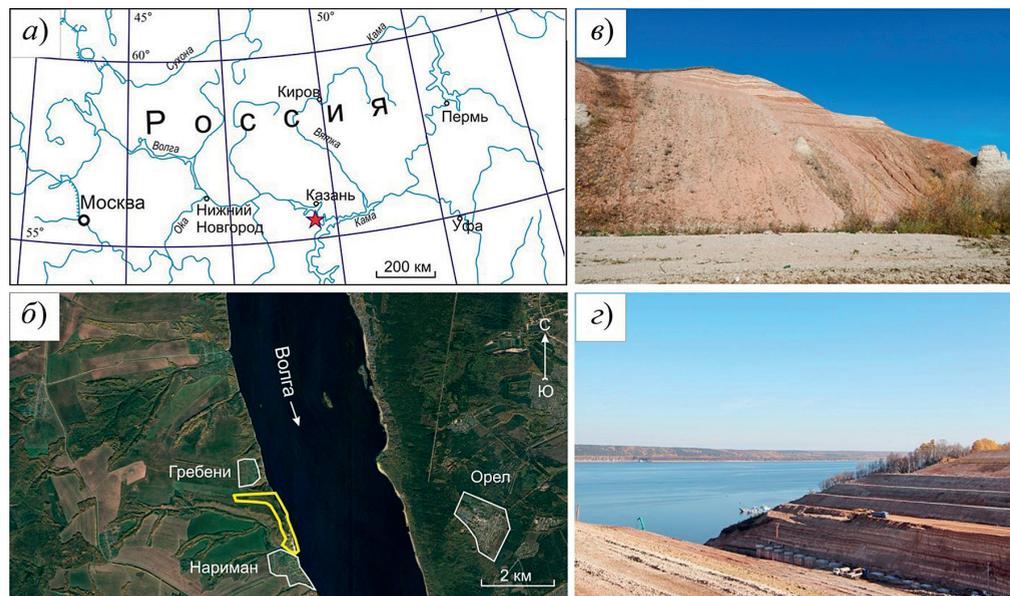


Рис. 1. Разрез отложений уржумского яруса Гребени: а) местоположение разреза на карте европейской территории России; б) спутниковый снимок с серией обнажений (выделено желтым); в) нижняя часть разреза, береговое обнажение в районе д. Нариман; г) верхняя часть разреза в выемке под дорожное строительство в районе д. Гребени

В непосредственной близости от этого разреза в 2020 г. в правом борту Волги была сделана свежая выемка под строительство федеральной трассы М12 и мостового перехода через Волгу. Выемкой вскрыта ранее недоступная для наблюдения верхняя часть разреза уржумского яруса (рис. 1, г), представленная континентальными красноцветными отложениями мощностью 50 м, содержащими палеопочвенные профили.

Целью данной работы является палеоклиматическая и палеоландшафтная реконструкция на основе детального описания палеопочвенных профилей разреза Гребени, а также его корреляция с опорным разрезом уржумского яруса.

1. Объекты и методы исследования

Объектами исследования служили обнажения уржумских отложений в береговых склонах Волги и в бортах выемки под строительство федеральной трассы М12 (рис. 1), которые последовательно наращивают друг друга, формируя непрерывный разрез уржумского яруса мощностью около 70 м.

Всего было отобрано 44 образца, из них 17 образцов из двух палеопочвенных профилей, 16 образцов осадочных карбонатных пород по всему разрезу со средним шагом 5 м и 7 образцов педогенных карбонатных нодулей. Описание осадочных пород разреза и палеопочвенных профилей учитывало визуальные признаки, определяемые полевыми методами (цвет, мощность, структурно-текстурные особенности, наличие включений, корневых ходов

и др.). Для выделения элементарных циклитов в разрезе использовалась методика, включающая прослеживание явных и скрытых несогласий [8, 13], при этом границами циклитов служили либо эрозионные врезы песчаников, либо поверхности субаэральной экспозиции, представленные глинистыми брекчиями или палеопочвами. Документация палеопочв проводилась по методике Реталлака [15], их классификация проводилась по схеме Мака и др. [16].

Лабораторные исследования включали определение карбонатности и нерастворимого остатка, оптическую микроскопию палеопочв, карбонатных нодулей, а также песчано-пылевой фракции палеопочв, рентгено-флуоресцентный анализ (РФА), рентгенофазовый анализ илистой фракции палеопочв, гранулометрический анализ. Илистая фракция выделялась путем диспергирования нерастворимого остатка с помощью ультразвука и его последующего центрифугирования. Карбонатные породы разреза и карбонатные нодули из палеопочв исследовали с помощью анализа стабильных изотопов углерода и кислорода, при этом использовали микритовые разности пород без признаков вторичных изменений. Анализ проводили методом кислотной обработки карбонатов с последующим разделением изотопов углерода и кислорода из углекислого газа. Исследования проводили на изотопном масс-спектрометре Delta V Plus (Thermo Fisher Scientific, Германия) в лаборатории элементного и изотопного анализа Института геологии и нефтегазовых технологий Казанского (Приволжского) федерального университета.

Расчет геохимических модулей для генетической и палеоклиматической интерпретации палеопочв выполняли по методике, изложенной в работах [17–19], используя мольные доли оксидов химических элементов. Детальное описание методик лабораторных исследований представлено в работах [8, 10].

2. Результаты

В верхней части разреза дорожной выемки выявлено два палеопочвенных профиля, которые залегают в 15 м по вертикали друг от друга и приурочены к отложениям верхней части ишеевской свиты уржумского яруса (рис. 2).

Описание палеопочвенных профилей. Нижний почвенный профиль мощностью около 1.4 м залегают между известняками серыми и голубовато-серыми с корневыми ходами и волнистой слоистостью и имеет следующее строение (рис. 3) (сверху вниз):

D (перекрывающий слой, 40 см). Известняк толстоплитчатый, массивный, зеленовато-серый, доломитовый, с тонкими прослойками зеленоватых глин в нижней части. Переход по цвету и составу, граница резкая, волнистая.

Палеопочва (0–135 см).

Bss (0–20 см). Плотный, суглинистый, красновато-бурого цвета, структура блочно-комковатая. Размеры блоков от 5 до 10 см. Вскипает от HCl. На поверхности блоков наблюдаются сликенсайды (зеркала скольжения). В нижней части содержит мелкие глеевые пятна. Переход резкий по цвету и составу, граница неровная, языковатая.

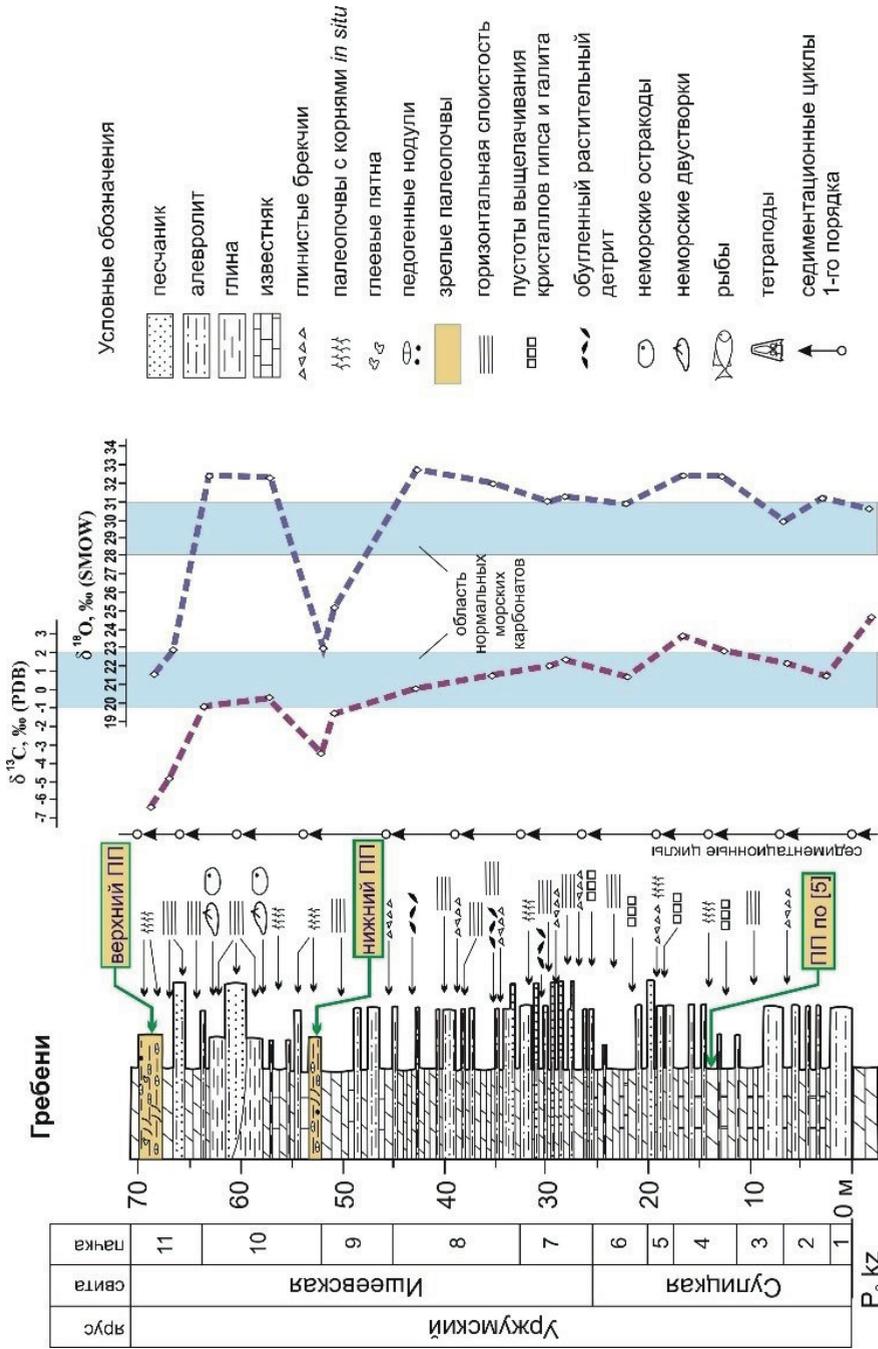


Рис. 2. Сводный разрез уржумских отложений Гребени с палеочвенными профилями (ПП) и вариации величин $\delta^{13}\text{C}$ и $\delta^{18}\text{O}$ в осадочных карбонатах. Стратиграфические подразделения выделены условно путем корреляции с опорным разрезом Черемушка [2]. Названия пачек: 1 – глинисто-песчаная, 2 – мергельная, 3 – глинистая, 4 – доломитовая, 5 – песчано-глинистая, 6 – глинисто-мергельная, 7 – «кварцевых песчаников», 8 – «зеленых глин», 9 – «черемушка», 10 – «ленточных мергелей», 11 – «малиновых глин», 12 – «табачных песчаников», 13 – «крутоовражная» (по [2])

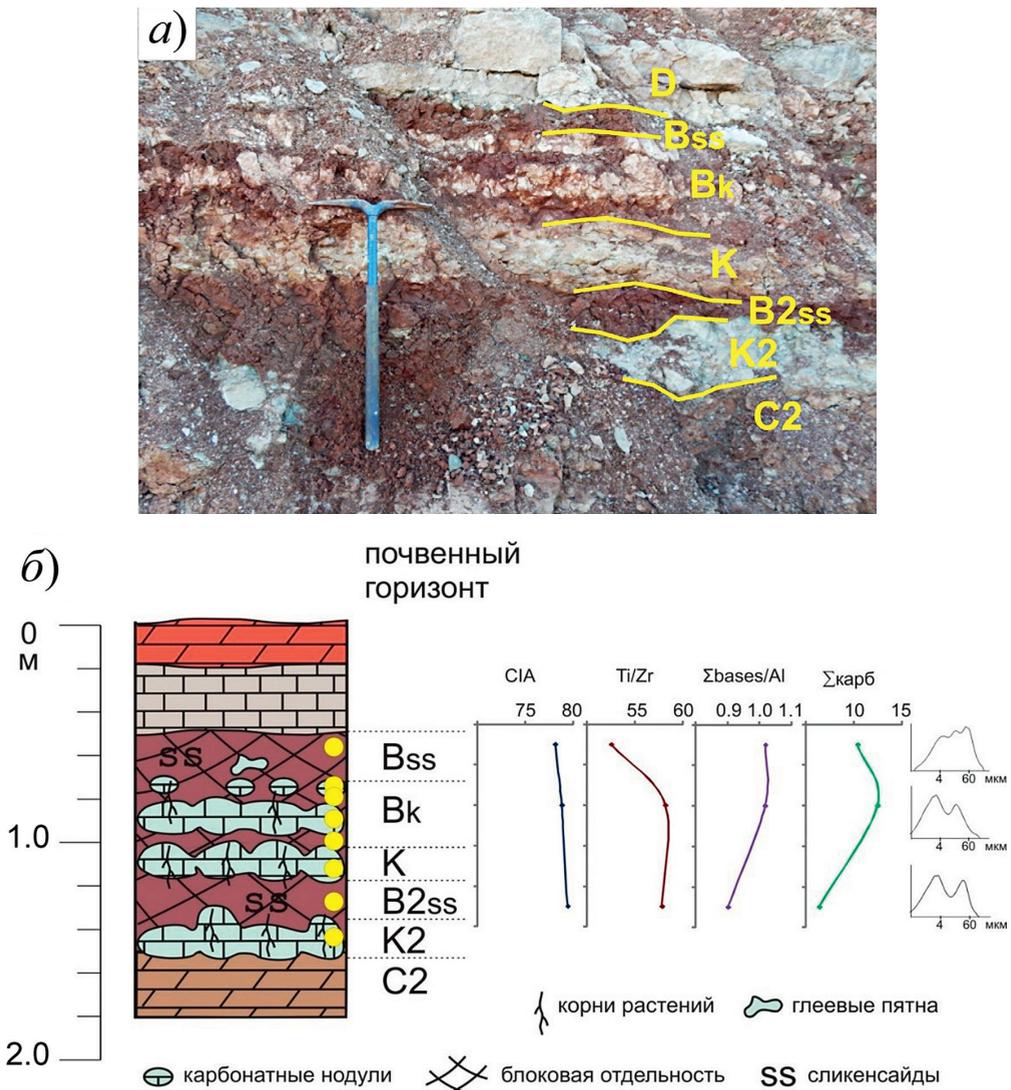


Рис. 3. Строение нижнего почвенного профиля: *a)* общий вид с выделенными почвенными горизонтами, длина кайла – 63 см; *б)* вертикальный геохимический профиль и гистограммы гранулометрического состава. Разрез Гребени, уржумский ярус. Желтые точки показывают уровни отбора проб. Обозначение почвенных горизонтов – по [4, 15]: *B* – внутрипочвенный иллювиальный или структурный горизонт, *K* – внутрипочвенный массивный карбонатный горизонт (калькрет), *C* – почвоматеринская порода, подстилающая внутрипочвенные горизонты, более выветрелая, чем вмещающие породы и не несущая следов педогенеза, *D* – подстилающая рыхлая порода, лежащая под горизонтом *C* или над почвой, не несущая следов педогенеза. Цифры рядом с почвенными горизонтами обозначают порядок залегания самостоятельных почв в вертикальном профиле сверху вниз, например, *K2* – вторая почва, массивный карбонатный горизонт. Специфика почвенных горизонтов – по [4, 15]: *Bk* – наличие карбонатов кальция, *Bss* – наличие сликенсайдов (зеркал скольжения) на поверхности педов (почвенных блоков). Описание почвенных горизонтов, расшифровка геохимических индексов и гистограмм гранулометрического состава приведены в тексте

Bk (20–70 см). Плотный, суглинистый, красновато-бурого цвета, структура блочно-комковатая. Размеры блоков от 5 до 15 см. Вскипает от HCl .

Содержит два уровня плотных белых и розовато-белых тесно сросшихся карбонатных нодулей размером от 3 до 15 см, которые формируют субгоризонтальные прослои. Границы нодулей окаймлены прослоями и примазками красно-бурой глины. Нодули содержат редкие отпечатки корневых систем субвертикальной ориентации диаметром до 2–3 мм. Характерны сликенсайды на поверхностях почвенных блоков. Переход постепенный по цвету и составу, граница волнистая.

К (калькрет, 70–95 см). Плотный известняк розовато-серого цвета, разбит трещинами на отдельные линзовидные блоки толщиной от 3 до 15 см с волнистой поверхностью. Наблюдаются белесые отпечатки корневых систем субвертикальной ориентации до 5 мм в диаметре. Переход довольно резкий по смене цвета и состава, граница волнистая.

B2ss (95–115 см). Плотный, суглинистый, вишнево-бурого цвета, структура блочно-комковатая. Размеры блоков от 2 до 10 см. Слабо вскипает от HCl. На поверхностях блоков развиты сликенсайды. Переход резкий по изменению цвета и состава, граница карманообразная.

K2 (калькрет, 115–135 см). Плотный известняк белого и светло-серого цвета, представлен тесно сросшимися округлыми нодулями линзовидной формы размером от 5 до 15 см. Содержит частые отпечатки корневых систем субвертикальной ориентации до 5 мм в диаметре. Переход довольно четкий по цвету и появлению слоистой структуры.

S2 (135–165 см). Мергель розовато-серый, алевритовый, плитчатый, не содержит корневых отпечатков.

Верхний почвенный профиль мощностью 2.2 м подстилается и перекрывается розовыми тонкоплитчатыми мергелями с прослоями алевролитов и имеет следующее строение (рис. 4):

D (перекрывающий слой, 30 см). Мергель розовый, тонкоплитчатый, алевритовый. Переход довольно четкий, по цвету и структуре, граница волнистая.

Палеопочва (0–220 см).

Vk (0–30 см). Рыхлый, мучнистый, белого и розовато-белого цвета, содержит плотные уплощенные карбонатные нодули размером от 3 до 15 см. В нодулях встречаются редкие отпечатки корневых систем диаметром до 2 мм. Переход резкий по цвету и составу, граница волнистая.

Bss (30–50 см). Плотный, суглинистый, вишнево-красного цвета, структура ореховатая. Основная масса содержит редкую сеть тонких светло-серых корневых отпечатков, сильно вскипает от HCl. В нижней части встречаются небольшие глеевые пятна. На поверхности почвенных блоков наблюдаются сликенсайды. Переход четкий по цвету и составу, граница неровная, языковатая.

K2 (50–100 см). Известняк светло-серого и желтовато-серого цвета, характеризуется блочно-призматической отдельностью, размеры блоков от 5 до 20–25 см. На поверхности и внутри блоков содержит густую сеть субвертикальных корневых каналов до 5 мм в диаметре, часто заполненных кристаллическим кальцитом. Переход четкий по появлению слоистой структуры и изменению цвета.

S2 (100–115 см). Известняк плотный, темно-серого цвета, волнистослоистый, верхняя и нижняя границы неровные, не содержит отпечатков корневых систем.

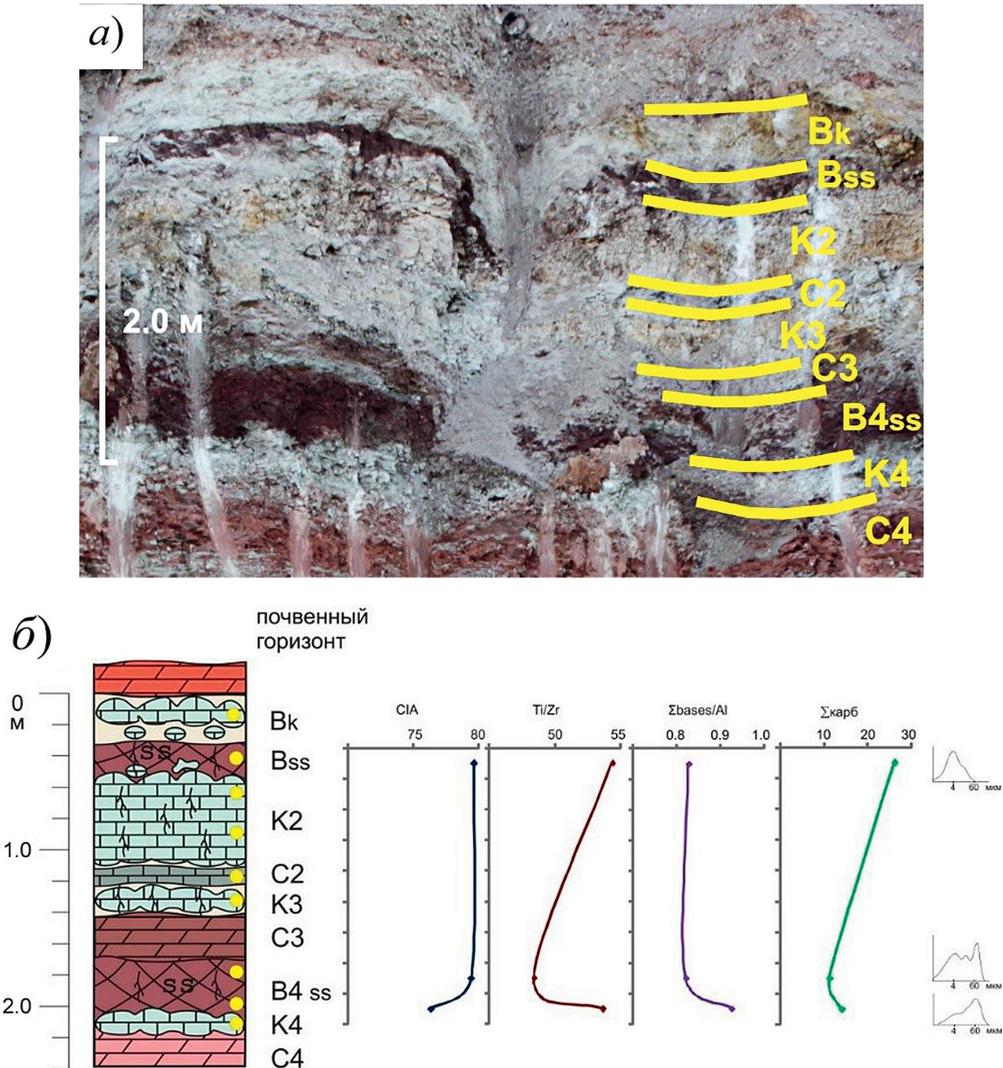


Рис. 4. Строение верхнего почвенного профиля: а) общий вид с выделенными почвенными горизонтами; б) вертикальный геохимический профиль и гистограммы гранулометрического состава. Разрез Гребени, уржумский ярус. Желтые точки показывают уровни отбора проб. Описание почвенных горизонтов, расшифровка геохимических индексов и гистограмм гранулометрического состава приведены в тексте. Условные обозначения см. на рис. 3

K3 (115–130 см). Известняк светло-серого и желтовато-серого цвета, аналог горизонта K2. Переход четкий по появлению блочно-призматической структуры, изменению цвета.

C3 (130–160 см). Мергель розовато- и буровато-серый, плитчатый, алевроитовый, не содержит отпечатков корневых систем, граница волнистая.

B4ss (160–200 см). Плотный, суглинистый, от темно-красного до вишнево-красного цвета, структура ореховатая. Основная масса содержит редкие сизые отпечатки корней, вскипает от HCL. На поверхности почвенных блоков наблюдаются сликенсайды. В верхней части встречаются редкие пятна горчично-желтого цвета.

Переход четкий по цвету и составу, граница неровная, языковатая.

K4 (200–220 см). Известняк нодулярный серого цвета, представляет собой тесно сросшиеся линзовидные нодулы размером от 5 до 20 см. Встречаются редкие тонкие корневые каналы. Переход довольно четкий по изменению цвета и появлению плитчатой структуры, граница волнистая.

S4 (220–240 см). Мергель розовато-бурый, алевроитовый, плитчатый, не содержит корневых отпечатков, в нижней части горизонтально-слоистый.

Геохимия и гранулометрия палеопочвенных профилей. Для генетической интерпретации палеопочв в работе использованы геохимические модули: CIA, Ti/Zr, $\Sigma\text{bases}/\text{Al}$, а также суммарное содержание карбонатов $\Sigma\text{карб}$ (% масс.). Параметр CIA (Chemical Index of Alteration) равен отношению глинозема к сумме глинозема и оснований ($\text{CIA} = (\text{Al}_2\text{O}_3 / (\text{Al}_2\text{O}_3 + \text{Na}_2\text{O} + \text{K}_2\text{O} + \text{CaO})) \times 100$) [17], он показывает степень выноса щелочных металлов и кальция из почвенного профиля в процессе выветривания, т. е. степень выветрелости обломочного материала. Индекс Ti/Zr отражает отношение оксида титана к оксиду циркония ($\text{Ti}/\text{Zr} = \text{TiO}_2/\text{ZrO}_2$) [19]. Эти элементы нечувствительны к процессам выветривания в почвенном профиле, поэтому отношение Ti/Zr определяется соотношением обломочных минералов рутила и циркона, что отражает изменение состава питающих провинций, или областей сноса [19]. Параметр $\Sigma\text{bases}/\text{Al}$ ($\Sigma\text{bases}/\text{Al} = (\text{Na}_2\text{O} + \text{MgO} + \text{K}_2\text{O} + \text{CaO})/\text{Al}_2\text{O}_3$) [18] показывает отношение щелочных и щелочноземельных элементов, выносимых из почвенного профиля атмосферными осадками в процессе выветривания, к глинозему, накапливающемуся при этом в почве. Этот параметр используется также для оценки среднегодового количества осадков и применяется к карбонатным палеопочвам [18], при этом величина отношения $\Sigma\text{bases}/\text{Al}$ будет обратно пропорциональна количеству осадков. Суммарное содержание первичных карбонатов $\Sigma\text{карб}$ в почвенном профиле в целом определяется соотношением количества осадков и испарения, т. е. служит показателем степени аридности и сезонности климата [20]. С увеличением степени аридности климата будет увеличиваться содержание карбонатов в почве и будет уменьшаться глубина залегания карбонатного горизонта [20].

Гистограммы гранулометрического состава (рис. 3, б и 4, б) показывают распределение по размеру обломочных зерен в почве или породе. При этом пики на гистограммах соответствуют наиболее распространенным размерам зерен в микрометрах.

В нижнем палеопочвенном профиле степень выветрелости обломочного материала, определяемая индексом CIA, по всему профилю высокая (рис. 3, б), наибольшая карбонатность характерна для его средней части, значения $\Sigma\text{bases}/\text{Al}$ слабо увеличиваются вверх по профилю. Гранулометрический состав в верхней части профиля становится более грубым за счет увеличения доли пылеватых зерен.

Верхний палеопочвенный профиль характеризуется также высокой степенью выветрелости обломочного материала (CIA) (рис. 4, б), повышенной карбонатностью в верхней части, более низкими значениями $\Sigma\text{bases}/\text{Al}$, чем в нижнем профиле. Гранулометрический состав в верхней части профиля более тонкий, т. е. характеризуется большей глинистостью, чем в нижней части.

Микроморфология и минералогия палеопочвенных профилей. Внутрипочвенная масса в нижнем палеопочвенном профиле слабо агрегирована, имеет пятнистую микротекстуру, песчаные зерна кварца образуют скопления в пылевато-глинистой массе, к которым приурочены пятна обохривания (рис. 5, *а*). Карбонатные нодулы сложены кальцимикритом, в массе которого равномерно рассеяны обломочные зерна кварца и других минералов (рис. 5, *б*).

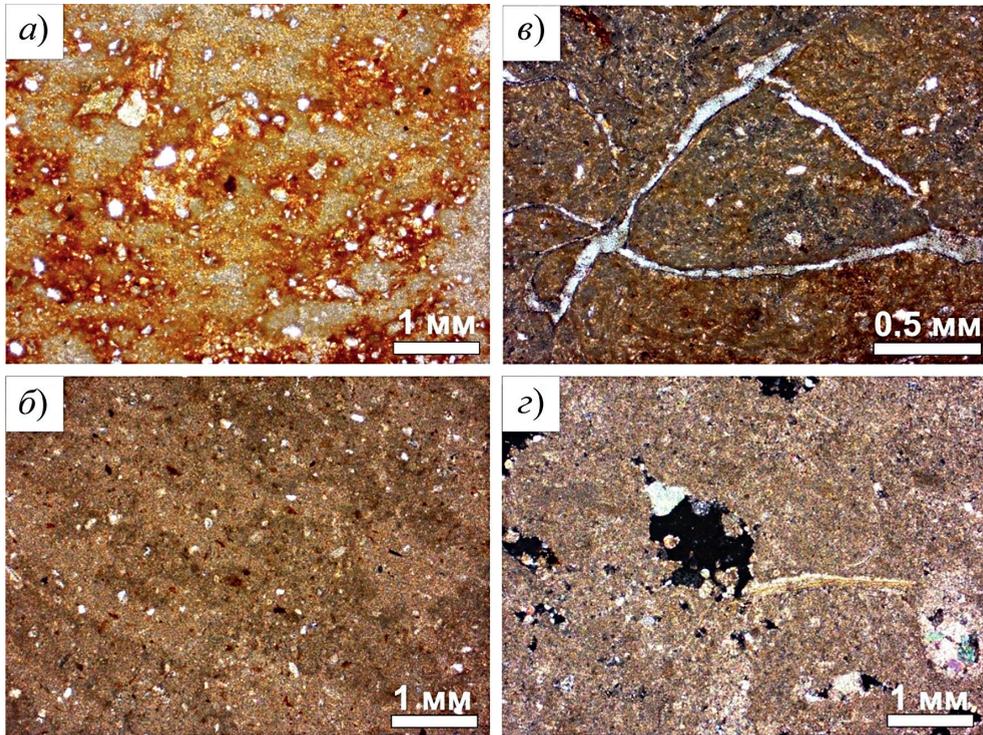


Рис. 5. Микроморфология палеопочв: *а*) пылевато-глинистая внутрипочвенная масса со скоплениями обломочных зерен кварца и обохриванием вокруг них, нижний профиль; *б*) карбонатный нодуль с «плавающими» зернами кварца в основной микритовой массе, нижний профиль, *в*) почвенные микроагрегаты с заметной ориентацией пылевато-глинистой массы и редкими обломочными зернами, верхний профиль, *з*) ризоидный известняк горизонта КЗ, фрагменты раковин остракод и двустворок, корневые пустоты с кристаллами вторичного кальцита, верхний профиль

Верхний палеопочвенный профиль отличается хорошей агрегацией внутрипочвенной массы с ориентацией глинистых частиц в микроагрегатах (рис. 5, *в*) и меньшей долей обломочных зерен по сравнению с нижним профилем. Известняки, входящие в состав профиля, характеризуются присутствием фрагментов раковин остракод и двустворок, а также широким развитием корневых пустот до 1–2 мм в диаметре на фоне общей микритовой массы (рис. 5, *з*).

По гранулометрическому составу почвообразующие породы обоих профилей относятся к алевритам и песчанистым алевритам, пылеватая фракция в них превышает 50%. Минералогический состав песчаной и пылеватой фракции представлен кварцем, кварцитами, редкими зернами полевых шпатов, слюды и рудных минералов. Илистая фракция верхнего и нижнего профилей представлена смектитом, иллитом, кварцем и гематитом (рис. 6).

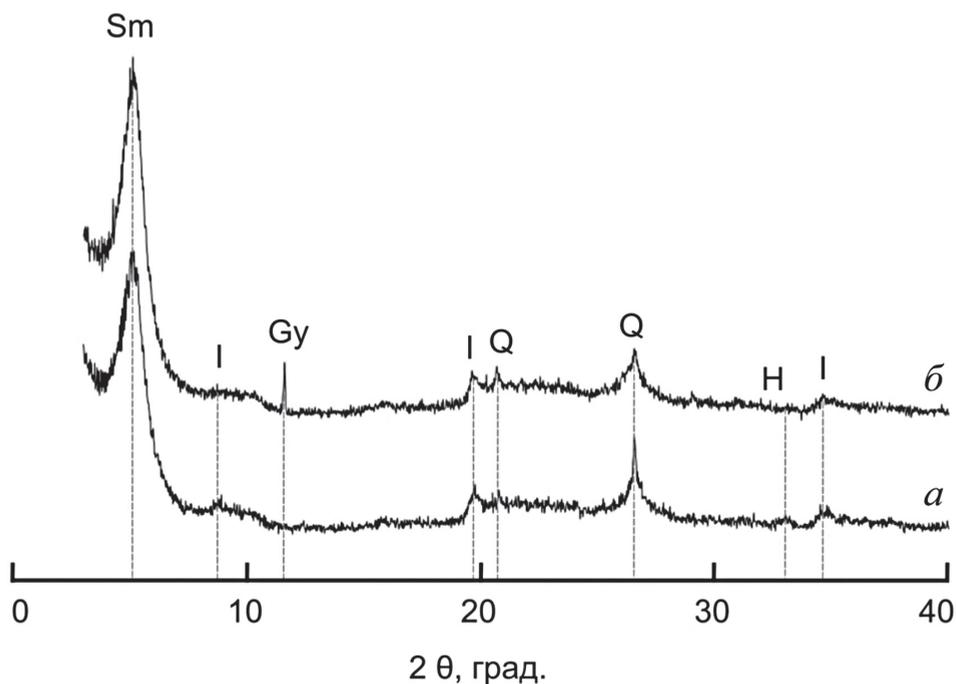


Рис. 6. Дифрактограммы илистой фракции горизонта Bss нижнего (а) и верхнего (б) палеопочвенных профилей. Sm – смектит, I – иллит, Gy – гипс, Q – кварц, H – гематит. Образцы насыщены этиленгликолем

Изотопия палеопочвенных профилей и карбонатных пород. Значения величин δ изотопов углерода и кислорода в педогенных карбонатах нижнего профиля составили -3.2‰ $\delta^{13}\text{C}$ и 27.5‰ $\delta^{18}\text{O}$, в верхнем профиле -4.6‰ и 22.1‰ соответственно. Вариации величин $\delta^{13}\text{C}$ и $\delta^{18}\text{O}$ в осадочных карбонатах по разрезу Гребени приведены на рис. 2, здесь можно выделить два изотопно-геохимических цикла – нижний, включающий сулицкую и нижнюю половину ишеевской свиты, и верхний, соответствующий верхней половине ишеевской свиты. В нижнем цикле значения величин $\delta^{13}\text{C}$ и $\delta^{18}\text{O}$ находятся в пределах области нормальных морских карбонатов или немного превышают ее, в верхнем цикле наблюдаются резкие отрицательные и положительные экскурсы значений этих величин.

3. Обсуждение

В нижнем палеопочвенном профиле накопление осадков происходило в две стадии, что подтверждается изменением значения Ti/Zr и гранулометрического состава верхней части профиля (рис. 3, б). Согласно [21] строение этого профиля сложное, т. е. процесс осадконакопления проходил в две стадии и сопровождался процессом педогенеза, скорость которого была выше скорости накопления осадков. Об этом свидетельствует и наличие нескольких карбонатных горизонтов в профиле (рис. 3, б). Нижний палеопочвенный профиль классифицируется как вертик кальцисоль по классификации [16], так как его главным признаком является присутствие педогенных карбонатов. Широкое развитие сликенсайдов на поверхности почвенных блоков и смектито-

вый состав илистой фракции позволяют добавить подкласс «вертик» к классу «кальцисоль» согласно классификации [16].

Сликенсайды являются результатом многократно повторяющихся процессов набухания-усадки в ходе увлажнения-высыхания, т. е. отражают сезонность выпадения осадков [4]. Присутствие карбонатных нодулей и горизонтов свидетельствует об испарении почвенных вод, связанном с аридностью климата [3, 20]. Микростроение внутрипочвенной массы указывает на биотурбацию осадка корневой системой и перераспределение минералов железа в почвенном профиле, т. е. их иллювирование по проницаемым зонам.

Строение верхнего палеопочвенного профиля составное, по [21], он представляет собой педокомплекс, состоящий из четырех почвенных профилей, последовательно наложенных друг на друга, разделенных в средней части прослоями непедогенных пород (горизонты С2 и С3, рис. 4, б). Высокая степень выветрелости обломочного материала (параметр CIA) в верхней и нижней частях педокомплекса свидетельствует о его многократном переотложении и прохождении через циклы выветривания в более древних почвах.

Верхняя почва в составе педокомплекса (горизонты Vк-Bss, рис. 4, б) классифицируется согласно [16] как вертик кальцисоль в силу широкого развития карбонатных нодулей и сликенсайдов, нижняя почва (горизонты В4ss-K4, рис. 4, б) – как вертисоль, так как ореховатая отдельность и развитие сликенсайдов на поверхностях почвенных блоков являются ведущим признаком. Степень зрелости этих палеопочв интерпретируется как сильно развитые по специфической мелкокомковатой и ореховатой структуре глин. Одновременное присутствие охристых стяжений и глеевых пятен во внутрипочвенной массе является признаком перераспределения соединений железа в почве, связанного с сезонным увлажнением сверху атмосферными осадками, контролирующим окислительно-восстановительные условия [3, 22].

Как и в нижнем палеопочвенном профиле, присутствие сликенсайдов и карбонатных нодулей в верхней почве педокомплекса свидетельствует о переменном-влажном полуаридном климате. По геохимическому индикатору $\Sigma \text{bases}/\text{Al}$ [18], который применяется для карбонатных палеопочв, было вычислено среднегодовое количество осадков по данным химического анализа горизонта Bss. Среднегодовое количество осадков, рассчитанное согласно [18] по формуле

$$P = -259.34 \ln\left(\frac{\sum \text{bases}}{\text{Al}}\right) + 759.052,$$

составило 522 мм/год. В качестве современных аналогов этих палеопочв можно назвать красно-бурые почвы сухих субтропиков Средиземноморья или Австралии [23].

В средней части педокомплекса залегают две почвы (горизонты К2 и К3, рис. 4, б), развитые на озерных известняках, разделенные и подстилающиеся слабоизмененными карбонатными осадками (горизонты С2 и С3, рис. 4, б). Наиболее близкими к ним из современных почв являются кальциевые литосоли [5, 23] и карбопетроземы [6]. Вертикальная призматическая отдельность и развитие корневых отпечатков по всей мощности этих почв на извест-

нях свидетельствуют о рыхлом сложении карбонатного осадка в процессе почвообразования, что могло иметь место в крайне мелководных прибрежных условиях озерных водоемов. Литификация карбонатного осадка происходила на начальных стадиях осушения озерного бассейна, либо после его полного осушения и выхода на поверхность карбонатного ила. Этот процесс был достаточно быстрым, на что указывает микритовый размер карбонатных зерен. Сходные по строению палеопочвы на известняках описаны в опорном разрезе уржумского и северодвинского ярусов в Монастырском овраге [6] и имеют широкое развитие в уржумских отложениях Казанского Поволжья.

В строении верхнего педокомплекса можно выделить три седиментационных ритма (рис. 4, б): 1) озерно-плайевый (C4-B4ss), сопровождавшийся педогенезом на поздней стадии, 2) озерно-болотный (C3-C2) с почвообразованием на средней стадии и 3) озерно-плайевый (K2-Bk) с педогенезом на всех стадиях. Известковые озерные осадки горизонтов K4 и K2 после осушения озера подвергались частичному размыву и карстованию, о чем свидетельствует их карманообразные контакты с перекрывающими алеврито-глинистыми слоями, которые формировались в сухих и плоских бессточных котловинах (плайях) поверх озерных осадков.

Таким образом, процесс осадконакопления верхнего педокомплекса был неравномерным, стадии быстрого накопления сменялись стадиями медленного накопления либо перерывами, сопровождавшимися педогенезом. Длительность формирования зрелых почв на алеврито-глинистых осадках оценивается в сотни–первые тысячи лет [3]. В составе педокомплекса таких почв две, из этого следует, что общее время их формирования можно оценить в несколько тысяч лет. Между этими почвами залегают две почвы на известняках общей мощностью 0.65 м, их накопление шло медленнее алеврито-глинистых осадков и могло занимать также первые тысячи лет. Кроме того, процесс накопления непедогенных известняков и мергелей общей мощностью 0.45 м, залегающих между палеопочвами, мог продолжаться от сотен до первых тысяч лет, столько же мог занимать процесс размыва и карстования известняков горизонта K2 (рис. 4). Таким образом, суммарно процесс формирования всего педокомплекса с учетом времени накопления осадков составлял от первых тысяч до десятков тысяч лет. Озерно-болотные и озерно-плайевые обстановки накопления осадков формировались в условиях плоской низменной суши, озерно-аллювиальных равнин, которые сохранялись длительное время, благодаря режиму тектонической стабильности территории [21]. Весь педокомплекс со зрелыми почвами отражает длительный перерыв в осадконакоплении минимум в несколько тысяч лет, его верхняя граница является границей седиментационного цикла [3, 13] и может использоваться в качестве литостратиграфического маркера при корреляции разрезов.

Схожий по строению педокомплекс, залегающий также в верхней части уржумских отложений, в пачке «малиновых глин», выявлен нами ранее в опорном разрезе уржумского яруса оврага Черемушка [7, 9, 10], в 23 км к северу от разреза Гребени. Он представляет собой последовательность из 3–4 почв, разделенных в средней части непедогенными слоистыми породами (рис. 7).

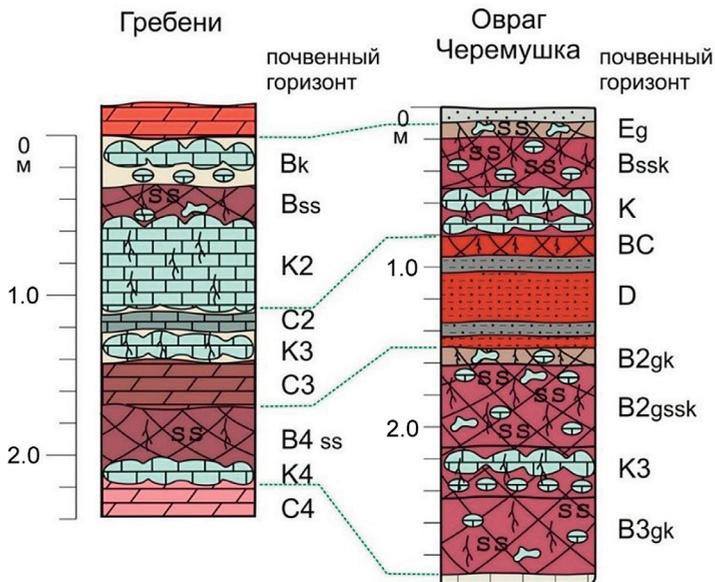


Рис. 7. Строение, седиментационные ритмы и корреляция педокомплексов Гребени и оврага Черемушка (пояснения – в тексте). Условные обозначения см. на рис. 3

Геохимические и минералогические исследования обломочных пород обоих педокомплексов показали сходство их химического состава, размеров и степени окатанности зерен, минерального состава илистой и песчано-пылевой фракций [7, 10], а также изотопного состава углерода и кислорода педогенных нодулей (табл. 1).

Табл. 1

Сравнительная характеристика педокомплексов разреза Гребени и оврага Черемушка (по [14])

Педокомплекс	Мощность, м	Стадия развития	Количество почв	Минералогия илистой фракции	$\delta^{13}\text{C}$, ‰ (PDB)	$\delta^{18}\text{O}$, ‰ (SMOW)
Овраг Черемушка	2.8	III–IV	3	Смектит > иллит > хлорит	-5.2	21.1
Гребени	2.2	IV	4	Смектит > иллит	-4.9	21.8

Примечание: PDB – Pee Dee Belemnite, стандарт, SMOW – Standard Mean Ocean Waters, стандарт.

Корреляция этих педокомплексов в разрезе уржумского яруса подтверждается в обоих случаях залеганием в 5–6 м под ними характерной пачки зеленовато-бурых песчаников, подстилающихся и перекрывающихся горизонтально-слоистыми «шоколадными» глинами с отпечатками неморских двустворчатых моллюсков *Palaeomutela sp.* и *Prilukiella sp.*, входящих в биозону *Palaeomutela wuhrmani* уржумского яруса Казанского Поволжья [9] (рис. 8). Стратиграфический потенциал педокомплекса оврага Черемушка усиливается находками в его

нижней части и в перекрывающем слое остатков рыб класса *Actinopterygii*, зубов и фрагментов костей амфибий *Archegosauroides* *fam. ind.*, рептилий *Dinocephalia* *fam. ind.* и др. [12].

Различие в строении и мощности этих педокомплексов (рис. 7) определяется различиями их ландшафтных условий формирования. Педокомплекс оврага Черемушка формировался на глинисто-алевритовых осадках затопливаемых пойменных равнин, что нашло отражение в широком развитии здесь глеевых признаков. Непедогенные слои алевро-песчаного состава, залегающие в средней части педокомплекса, содержат прослои темно-серых плитчатых глинистых алевролитов с обугленным растительным детритом, которые можно отнести к старичным отложениям. Таким образом, в составе педокомплекса оврага Черемушка также можно выделить три седиментационных ритма, соответствующие ритмам педокомплекса Гребени: нижний, включающий две нижние почвы, средний, осадочный, не несущий следов педогенеза, и верхний, включающий верхнюю почву (рис. 7). Все эти ритмы аллювиальные, они отражают различные фациальные обстановки аллювиальных равнин, связанные в основном с удаленностью от главного русла [20]. В целом скорость накопления осадков в педокомплексе оврага Черемушка была выше, а перерывы в осадконакоплении были менее длительными, чем в педокомплексе Гребени, поэтому первый имеет большую мощность.

Изотопно-геохимические циклы, выделенные в разрезе Гребени, хорошо прослеживаются и в опорном разрезе уржумского яруса в овраге Черемушка (рис. 8), где исследования были проведены нами ранее [14, 24]. Нижний цикл, включающий сулицкую свиту и пачки «кварцевых песчаников» и «зеленых глин» ишеевской свиты, представлен осадками опресненного реликтового морского бассейна, унаследованного от казанского времени. Свидетельством этому являются значения $\delta^{13}\text{C}$ и $\delta^{18}\text{O}$ в карбонатных породах, близкие к нормальным морским карбонатным осадкам, пустоты выщелачивания кристаллов гипса и галита, а также практически полное отсутствие фауны в породах этого интервала. В верхнем изотопно-геохимическом цикле, включающем пачки «черемушка», «ленточных мергелей» и «малиновых глин», наблюдаются два резких отрицательных экскурса $\delta^{13}\text{C}$ и $\delta^{18}\text{O}$ до значений $-6-8\text{‰}$ PDB и $20-23\text{‰}$ SMOW соответственно (рис. 8), хорошо коррелирующие между собой в обоих изученных разрезах и отражающие смену обстановок осадконакопления на преимущественно пресноводные, аллювиально-озерные.

Количество седиментационных циклов, выделенных по литологическим признакам, от подошвы уржумского яруса до педокомплексов, различается в разрезах Гребени и оврага Черемушка (10 и 8 соответственно). Это можно объяснить расположением разреза оврага Черемушка в сулицкое время ближе к центральным частям осадочного бассейна, где преобладала карбонатная седиментация и было меньше перерывов в накоплении осадков, чем в его краевых частях, поэтому наблюдается меньшее число явно выраженных седиментационных циклов.

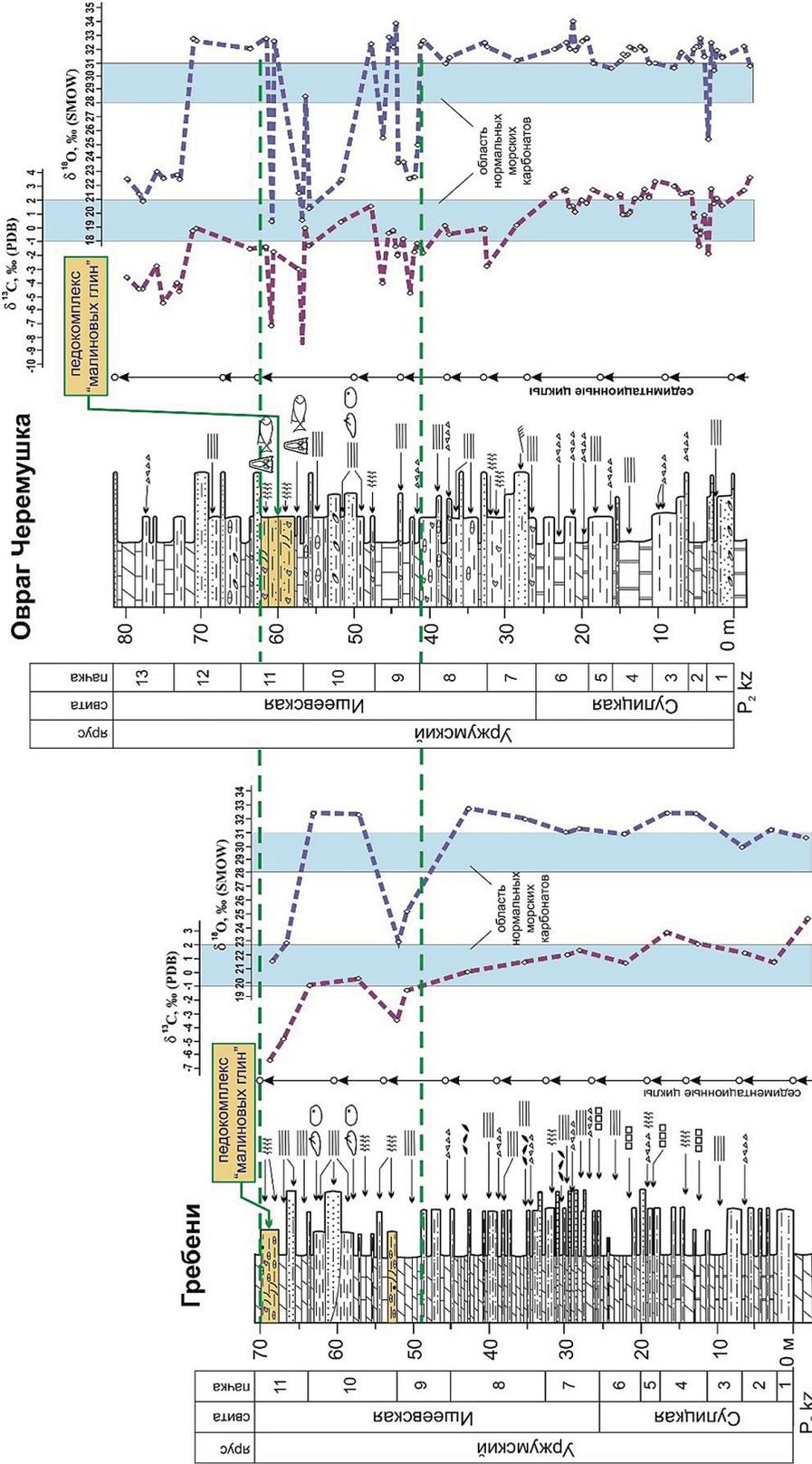


Рис. 8. Корреляция разреза Гребени с опорным разрезом Оврага Черемушка по седиментологическим, палеонтологическим, педогенным и изотопно-геохимическим признакам. Выделен верхний изотопно-геохимический цикл, содержащий педокомплекс в верхней части (пояснения в тексте). Условные обозначения см. на рис. 2

Таким образом, стратиграфическое положение и уникальность в разрезе уржумского яруса этих педокомплексов, сходство их строения, степени зрелости почв, минералогических, геохимических и изотопных признаков позволяет проводить их прямую корреляцию и использовать в качестве литологического маркера. В зарубежных стратиграфических классификациях такие палеопочвы или их комплексы, хорошо выраженные в разрезе и прослеживающиеся на большие расстояния по простиранию, рассматривают как «геосоли» или «педостратиграфические единицы» [25, 26] и используют при корреляции разрезов наряду с литостратиграфическими, биостратиграфическими и другими маркерами [27]. Примеры использования педостратиграфии в исследовании палеозойских морских и континентальных отложений приведены в работах [28–31] и многих других. При этом коррелируемой является верхняя поверхность палеопочв или педокомплексов, которая является поверхностью стратиграфического несогласия и отражает значительный перерыв в осадконакоплении.

Заключение

Проведенные исследования позволяют сделать следующие выводы:

1. Проведена детальная реконструкция палеоклиматических и палеоландшафтных условий средней перми по палеопочвам и вмещающим отложениям уржумского яруса на территории Казанского Поволжья, входящей в северную часть суперконтинента Пангея.

2. В верхней части разреза Гребени выявлено два профиля палеопочв, развитых на красноцветных алевропелитах. Педогенные признаки (сликенсайды, карбонатные нодулы, глеевые пятна) исследуемых палеопочв свидетельствуют о теплом переменном-влажном климате во второй половине уржумского века, характерном для субтропиков. Среднегодовое количество осадков для этого времени, вычисленное по геохимическим признакам почвенного профиля, составляет 522 мм/год.

3. Почвовмещающими породами в обоих случаях являются алевроитовые глины аллювиального/плайевого генезиса, залегающие среди озерных и озерно-болотных мергелей и известняков, по которым реконструируются обстановки озерно-аллювиальной равнины.

4. Оба почвенных профиля в целом классифицируются как вертик кальцисоли благодаря развитию сликенсайдов на поверхностях почвенных блоков и присутствию карбонатных нодул.

5. Верхний палеопочвенный профиль является составным, состоит из четырех самостоятельных палеопочв высокой степени зрелости, имеет мощность 2.2 м и содержит прослойки непедогенных мергелей и известняков, т. е. представляет собой педокомплекс, который формировался во время длительного перерыва в осадконакоплении и режима тектонической стабильности территории.

6. Корреляция разреза Гребени с опорным разрезом уржумского яруса в овраге Черемушка выявила расположение в последнем сходного по строению педокомплекса. Биостратиграфическое положение в разрезе, седиментологические и изотопно-геохимические данные свидетельствуют об одновозрастности этих педокомплексов.

7. Сходство строения, минералогического и химического состава педокомплекса разреза Гребени с педокомплексом опорного разреза оврага Че-

ремущка позволяет проводить их прямую корреляцию и использовать их в качестве педостратиграфического маркера, или геосоли. В силу расположения описанных педокомплексов в пачке «малиновых глин» опорного разреза уржумского яруса, предлагается дать название этому маркирующему горизонту «педокомплекс малиновых глин».

8. Прослеживание данного педостратиграфического маркера в разрезах уржумского яруса Среднего Поволжья является задачей дальнейших исследований в контексте внутрорегиональной корреляции уржумских отложений.

Благодарности. Работа выполнена за счет средств Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета «Приоритет-2030».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Постановления Межведомственного стратиграфического комитета и его постоянных комиссий. СПб.: Издательство ВСЕГЕИ, 2006. Вып. 36. 64 с.
2. *Силантьев В.В., Серебренникова И.А.* Стратотипы и опорные разрезы Казанского и уржумского ярусов в Приказанском районе. Местоположение и статус объектов // Геологические памятники природы Республики Татарстан / под ред. И.А. Ларочкиной. Казань: Акварель-Арт, 2007. С. 25–27.
3. *Иноземцев С.А., Таргульян В.О.* Верхнепермские палеопочвы: свойства, процессы, условия формирования. М.: ГЕОС, 2010. 188 с.
4. *Retallack G.J.* Soils of the Past: An Introduction to Paleopedology. Oxford: Blackwell Sci., 2001. 600 p. <https://doi.org/10.1002/9780470698716>.
5. *Наугольных С.В.* Казанская и татарская растительность пермского периода // Геологические памятники природы Республики Татарстан / под ред. И.А. Ларочкиной. Казань: Акварель-Арт, 2007. С. 236–254.
6. *Иноземцев С.А., Наугольных С.В., Якименко Е.Ю.* Верхнепермские палеопочвы на известняках: Морфология и генезис (среднее течение р. Волга) // Почвоведение. 2011. № 6. С. 660–674.
7. *Mouraviev F.A., Arefiev M.P., Silantiev V.V., Khasanova N.M., Nizamutdinov N.M., Trifonov A.A.* Red paleosols in the key sections of the Middle and Upper Permian of the Kazan Volga region and their paleoclimatic significance // Paleontol. J. 2015. V. 49, No 10. P. 1150–1159. <https://doi.org/10.1134/S0031030115110064>.
8. *Муравьев Ф.А., Арефьев М.П., Силантьев В.В., Гареев Б.И., Баталин Г.А., Уразаева М.Н., Кропотова Т.В., Выборнова И.Б.* Палеогеографические условия накопления красноцветных алевропелитов средней-верхней перми на территории Казанского Поволжья // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2016. Т. 158, кн. 4. С. 548–568.
9. *Mouraviev F., Arefiev M., Silantiev V., Balabanov Yu., Bulanov V., Bakaev A., Zharinova V.* Stratotype of the Urzhumian Regional Stage in the Monastery Ravine, Kazan Volga Region, Russia // Kazan Golovkinsky Stratigraphic Meeting, 2017: Advances in Devonian, Carboniferous and Permian Research: Stratigraphy, Environments, Climate and Resources / ed. by M. Barclay, S. Nikolaeva, V. Silantiev. Bologna: Filodiritto Int. Proc., 2018. P. 188–196.
10. *Mouraviev F.A., Arefiev M.P., Silantiev V.V., Eskin A.A., Kropotova T.V.* Paleosols and host rocks from the Middle–Upper Permian reference section of the Kazan

- Volga region, Russia: A case study // *Palaeoworld*. 2020. V. 29, No 2. P. 405–425. <https://doi.org/10.1016/j.palwor.2019.05.004>.
11. *Mouraviev F.A., Silantiev V.V., Gareev B.I., Batalin G.A., Vybornova I.B.* Paleosols from the Urzhumian (Middle Permian) reference section, Kazan Volga region, Russia // *Int. Multidiscip. Sci. GeoConf. Surv. Geol. Min. Ecol. Manage., SGEM*. 2018. V. 18, No 1.1. P. 387–394. <https://doi.org/10.5593/sgem2018/1.1/S01.049>.
 12. *Silantiev V., Arefiev M., Mouraviev F., Bulanov V., Ivanov A., Urazaeva M., Bakaev A., Zharinova V.* The parastratotype of the Urzhumian Stage in the Vyatka-Kazan region, East-European Platform // *Kazan Golovkinsky Stratigraphic Meeting, 2017: Advances in Devonian, Carboniferous and Permian Research: Stratigraphy, Environments, Climate and Resources* / Ed. by M. Barclay, S. Nikolaeva, V. Silantiev. Bologna: Filodiritto Int. Proc., 2018. P. 206–215.
 13. *Арефьев М.П., Силантьев В.В.* Седиментологические и геохимические критерии выделения цикличности в эталонном разрезе уржумского и северодвинского яруса «Монастырский овраг» (Казанское Поволжье) // *Виртуальные и реальные литологические модели: Материалы 10 Уральского литологического совещания «Виртуальные и реальные литологические модели»*. Екатеринбург: ИГГ УрО РАН, 2014. С. 18–20.
 14. *Mouraviev F.A., Arefiev M.P., Silantiev V.V.* Paleosols and pedostratigraphy of the Urzhumian (Middle Permian) deposits of the Kazan Volga region // *Abstract Volume of Kazan Golovkinsky Stratigraphic Meeting, 2019 “Late Paleozoic Sedimentary Earth Systems: Stratigraphy, Geochronology, Petroleum Resources”*. Kazan, Kazan Fed. Univ. Press, 2019. P. 173–174.
 15. *Retallack G.J.* Field recognition of paleosols // *Reinhardt J., Sigleo W.R. Paleosols and Weathering Through Geologic Time: Principles and Applications*. Ser.: GSA Special Papers. 1988. V. 216, P. 1–21. <https://doi.org/10.1130/SPE216-p1>.
 16. *Mack G.H., James W.C., Monger H.C.* Classification of paleosols // *Geol. Soc. Am. Bull.* 1993. V. 105, No 2. P. 129–136. [https://doi.org/10.1130/0016-7606\(1993\)105<0129:COP>2.3.CO](https://doi.org/10.1130/0016-7606(1993)105<0129:COP>2.3.CO).
 17. *Nesbitt H.W., Young G.M.* Early Proterozoic climates and plate motions inferred from major element chemistry of lutites // *Nature*. 1982. V. 299, No 5885. P. 715–717. <https://doi.org/10.1038/299715a0>.
 18. *Sheldon N., Retallack G., Tanaka S.* Geochemical climofunctions from North American soils and application to paleosols across the Eocene–Oligocene boundary in Oregon // *J. Geol.* 2002. V. 110, No 6. P. 687–696. <https://doi.org/10.1086/342865>.
 19. *Sheldon N.D., Tabor N.J.* Quantitative paleoenvironmental and paleoclimatic reconstruction using paleosols // *Earth-Sci. Rev.* 2009. V. 95, No 1–2. P. 1–52. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2009.03.004>.
 20. *Retallack G.J.* Pedogenic carbonate proxies for amount and seasonality of precipitation in paleosols // *Geology*. 2005. V. 33, No 4. P. 333–336. <https://doi.org/10.1130/G21263.1>.
 21. *Kraus M.J.* Paleosols in clastic sedimentary rocks: Their geologic applications // *Earth-Sci. Rev.* 1999. V. 47, No 1–2. P. 41–70. [https://doi.org/10.1016/S0012-8252\(99\)00026-4](https://doi.org/10.1016/S0012-8252(99)00026-4).
 22. *Vepraskas M.J.* Redoximorphic features for identifying aquic conditions // *Tech. Bull. Raleigh, NC: Agric. Res. Serv., N. C. State Univ.*, 1992. V. 301. P. 1–33.
 23. *Наугольных С.В.* Палеопочвы перми и раннего триаса // *Семихатова М.А., Чумакова Н.М.* Климат в эпохи крупных биосферных перестроек. М.: Наука, 2004. С. 221–229.
 24. *Type and Reference Sections of the Middle and Upper Permian of the Volga and Kama River Regions. A Field Guidebook of XVIII International Congress on Carboniferous*

- and Permian / Ed. by D.K. Nurgaliev, V.V. Silantiev, S.V. Nikolaeva. Kazan: Kazan Univ. Press, 2015. 208 p. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.2619.1206>.
25. *North American Commission on Stratigraphic Nomenclature*. North American Stratigraphic Code // AAPG Bull. 1983. V. 67, No 5. P. 841–875.
 26. WG on definitions used in paleopedology // Paleopedology Glossary, 1997. URL: <http://fadr.msu.ru/inqua/nl-14/glossary.html/> (дата обращения: 30.04.2023).
 27. *Constantini E.A.S.* Paleosols and pedostratigraphy // Appl. Soil Ecol. 2018. V. 123. P. 597–600. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.09.021>.
 28. *Kabanov P.B., Alekseeva T.V., Alekseeva V.A., Alekseev A.O., Gubin S.V.* Paleosols in late Moscovian (carboniferous) marine carbonates of the East European craton revealing “great calcimagnesian plain” paleolandscapes // J. Sediment. Res. 2010. V. 80. P. 195–215. <https://doi.org/10.2110/jsr.2010.026>.
 29. *Мионов Р.В., Алексеева Т.В.* Палеопочвы в отложениях Каширского горизонта на юго-востоке Русской плиты (Республика Башкортостан): характеристика, палеоэкологическая и стратиграфическая значимость // *Литосфера*. 2022. № 22, вып. 5. С. 694–704. <https://doi.org/10.24930/1681-9004-2022-22-5-694-704>.
 30. *Joekel R.M.* Virgilian (Upper Pennsylvanian) paleosols in the Upper Lawrence Formation (Douglas Group) and in the Snyderville Shale Member (Oread Formation, Shawnee Group) of the Northern Midcontinent, USA: Pedologic contrasts in a cyclothem sequence // J. Sediment. Res. 1994. V. A64, No 4. P. 853–866. <https://doi.org/10.1306/d4267ee7-2b26-11d7-8648000102c1865d>.
 31. *Retallack G.J.* Cambrian, Ordovician and Silurian pedostratigraphy and global events in Australia // Aust. J. Earth Sci. 2009. V. 56, No 4. P. 571–586. <https://doi.org/10.1080/08120090902806321>.

Поступила в редакцию 03.05.2023

Принята к публикации 26.09.2023

Муравьев Федор Александрович, кандидат геолого-минералогических наук, доцент кафедры общей геологии и гидрогеологии Института геологии и нефтегазовых технологий

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: fedor.mouraviev@kpfu.ru

Кропотова Татьяна Владимировна, старший преподаватель кафедры теории относительности и гравитации Института физики

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: Tatyana.Kropotova@kpfu.ru

Гареев Булат Ирекович, директор научно-исследовательского центра «ГеоЛаб» Института геологии и нефтегазовых технологий

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: bulat@gareev.net

Баталин Георгий Александрович, инженер-исследователь научно-исследовательского центра Института геологии и нефтегазовых технологий «ГеоЛаб»

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: g@batalin.com

ORIGINAL ARTICLE

doi: 10.26907/2542-064X.2024.1.145-168

**Urzhumian Pedocomplexes of the Kazan Volga Region (Eastern Europe):
An Example of Paleoclimate and Paleolandscapes of the Subtropics
of the Continental Pangea in the Middle Permian***F.A. Mouraviev**, *T.V. Kropotova***, *B.I. Gareev****, *G.A. Batalin******Kazan Federal University, Kazan, 420008 Russia**E-mail: *fedor.mouraviev@kpfu.ru, **Tatyana.Kropotova@kpfu.ru, ***bulat@gareev.net,
****g@batalin.com*

Received May 3, 2023; Accepted September 26, 2023

Abstract

The paleosol profiles of the Urzhumian from the section on the right bank of the Volga River near the village of Grebeni were studied by field and laboratory methods. Two paleosol profiles on red clayey siltstones were identified. They were classified as strongly developed Vertic Calcisols based on their pedogenic features such as horizonation, carbonate nodules, slickensides, etc. The climate during their formation was found to be seasonally wet and warm. The mean annual precipitation was calculated from the geochemical indices of the paleosols and amounted to 522 mm/year for the Late Urzhumian. The reddish-brown soils in the dry subtropics of the Mediterranean or Australia can be considered as modern analogs of these paleosols.

The upper paleosol profile is a pedocomplex consisting of four single soils separated by non-pedogenic carbonate layers in the middle part. The pedocomplex structure contains one lacustrine-palustrine and two lacustrine-playa sedimentary microrhythms, which indicate the setting of lacustrine-alluvial plains and make it possible to estimate the duration of its formation spanning thousands to tens of thousands of years.

A pedocomplex with a similar structure was identified in the upper part of the Urzhumian of the reference section in the Cheremushka Ravine. Both pedocomplexes have very similar mineralogical, chemical, and granulometric composition of their siliciclastics, as well as the isotopic composition of pedogenic nodules. The biostratigraphic position of the pedocomplex in the Cheremushka Ravine shows that it is coeval with the pedocomplex of the Grebeni section. The correlation between them is direct, making them a useful pedostratigraphic marker. It is suggested to label this marker horizon as the “Crimson Clay pedocomplex”.

Keywords: paleosol, pedocomplex, Urzhumian, correlation, carbon and oxygen isotopes, geosol

Acknowledgments. This study was supported by the Kazan Federal University Strategic Academic Leadership Program (PRIORITY-2030).

Conflicts of Interest. The authors declare no conflicts of interest.

Figure Captions

Fig. 1. Urzhumian deposits of the Grebeni section: *a*) geographical location of the section on the map of European Russia; *b*) satellite image with the outcrop series (marked by yellow); *c*) the lower part of the section, the bank outcrop near the village of Nariman; *d*) the upper part of the section in the excavation for the M12 highway construction near the village of Grebeni.

Fig. 2. The sequence of the Urzhumian deposits in the Grebeni generalized section with paleosol profiles (PP) and variations in $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ values in sedimentary carbonates. Stratigraphic units were tentatively identified by correlation with the reference section of the Cheremushka Ravine [2]. Names of

the members, according to [2]: 1 – clayey-sandy, 2 – marly, 3 – clayey, 4 – dolomitic, 5 – sandy-clayey, 6 – clayey-marly, 7 – “quartz sandstone”, 8 – “green clays”, 9 – “Cheremushka”, 10 – “ribbon marls”, 11 – “crimson clays”, 12 – “tobacco sandstones”, 13 – “steep gullies”.

Fig. 3. The lower paleosol profile: *a*) general view with highlighted soil horizons, pick length 63 cm; *b*) vertical geochemical profile and histograms of the grain size composition. Grebeni section, Urzhumian. The sampling levels marked by yellow circles. Soil horizons, according to [4, 15]: B – subsurface illuvial or deposited horizon, K – subsurface massive carbonate horizon (calcrete), C – parent rock underlying the subsurface horizons, more weathered than fresh bedrock and non-pedogenic, D – unconsolidated bedrock underlying C or above soils, non-pedogenic. Numbers next to the soil horizons indicate the occurrence of soils in the vertical profile from top to bottom (K2 – the second soil layer, massive carbonate horizon). Features of the soil horizons, according to [4, 15]: Bk – soils with calcium carbonates, Bss – with slickensides (polished surfaces) on peds (soil blocks). Description of the soil horizons and interpretation of the geochemical indices and histograms of the grain size composition are given in the text.

Fig. 4. The upper paleosol profile: *a*) general view with highlighted soil horizons; *b*) vertical geochemical profile and histograms of the grain size composition. Grebeni section, Urzhumian. The sampling levels marked by yellow circles. Description of the soil horizons and interpretation of the geochemical indices and histograms of the grain size composition are given in the text. See Fig. 3 for the legend.

Fig. 5. Micromorphology of the paleosols: *a*) silty-clayey intraped mass with clusters of detrital quartz grains and limonitization around them, the lower paleosol profile; *b*) carbonate nodule with “floating” quartz grains in the micritic mass, the lower paleosol profile; *c*) soil microaggregates with visible orientation of clayey particles and sparse detrital grains, the upper paleosol profile; *d*) rhizoid limestone of K3 horizon, the fragments of ostracod and bivalve shells, the root voids with secondary calcite crystals, the upper paleosol profile.

Fig. 6. XRD spectra of the muddy fraction of the Bss horizon of the lower (*a*) and the upper (*b*) paleosol profiles. Abbreviations: Sm – smectite, I – illite, Gy – gypsum, Q – quartz, H – hematite. Samples saturated with ethylene glycol.

Fig. 7. Structure, sedimentary cycles, and correlation of the pedocomplexes of the Grebeni and Cheremushka Ravine (explanation in the text). See Fig. 3 for the legend.

Fig. 8. Correlation of the Grebeni section with the reference section of the Cheremushka Ravine based on sedimentological, paleontological, pedogenic, and isotopic-geochemical features. The upper isotopic-geochemical cycle containing pedocomplexes at the top is marked (explanation in the text). See Fig. 2 for the legend.

References

1. Resolution of the Interdepartmental Stratigraphic Committee and Its Standing Commissions. St. Petersburg, VSEGEI, 2006, no. 36. 64 p. (In Russian)
2. Silantiev V.V., Serebrennikova I.A. Stratotypes and reference sections of the Kazanian and Urzhumian Stages in the Kazan region. Location and status of objects. In: Larochkina I.A. (Ed.) *Geologicheskie pamyatniki prirody Respubliki Tatarstan* [Geological Heritage of the Republic of Tatarstan]. Kazan, Akvarel'-Art, 2007, pp. 25–27. (In Russian)
3. Inozemtsev S.A., Targulian V.O. *Verkhnepermские paleopochvy: svoistva protsessy, usloviya formirovaniya* [Upper Permian Paleosols: Properties, Processes and Formation Conditions]. Moscow, GEOS, 2010. 188 p. (In Russian)
4. Retallack G.J. *Soils of the Past: An Introduction to Paleopedology*. Oxford, Blackwell Sci., 2001, 600 p. <https://doi.org/10.1002/9780470698716>.
5. Naugolnykh S.V. Kazanian and Tatarian plants of the Permian period. In: Larochkina I.A. (Ed.) *Geologicheskie pamyatniki prorody Respubliki Tatarstan* [Geological Heritage of the Republic of Tatarstan]. Kazan, Akvarel'-Art, 2007, pp. 236–254. (In Russian)
6. Inozemtsev S.A., Naugolnykh S.V., Yakimenko E.Y. Upper Permian paleosols developed from limestone in the middle reaches of the Volga River: Morphology and genesis. *Eurasian Soil Sci.*, 2011, vol. 44, no. 6, pp. 604–617. <https://doi.org/10.1134/S1064229311060068>.
7. Mouraviev F.A., Arefiev M.P., Silantiev V.V., Khasanova N.M., Nizamutdinov N.M., Trifonov A.A. Red paleosols in the key sections of the Middle and Upper Permian of the Kazan Volga

- region and their paleoclimatic significance. *Paleontol. J.*, 2015, vol. 49, no. 10, pp. 1150–1159. <https://doi.org/10.1134/S0031030115110064>.
8. Mouraviev F.A., Arefiev M.P., Silantiev V.V., Gareev B.I., Batalin G.A., Urazaeva M.N., Kropotova N.V., Vybornova I.B. Paleogeography of accumulation of the Middle-Upper Permian red mudstones in the Kazan Volga Region. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2016, vol. 158, no. 4, pp. 548–568. (In Russian)
 9. Mouraviev F., Arefiev M., Silantiev V., Balabanov Yu., Bulanov V., Bakaev A., Zharinova V. Stratotype of the Urzhumian Regional Stage in the Monastery Ravine, Kazan Volga Region, Russia. In: *Kazan Golovkinsky Stratigraphic Meeting, 2017: Advances in Devonian, Carboniferous and Permian Research: Stratigraphy, Environments, Climate and Resources*. Barclay M., Nikolaeva S., Silantiev V. (Eds.). Bologna, Filodiritto Int. Proc., 2018, pp. 188–196.
 10. Mouraviev F.A., Arefiev M.P., Silantiev V.V., Eskin A.A., Kropotova T.V. Paleosols and host rocks from the Middle–Upper Permian reference section of the Kazan Volga region, Russia: A case study. *Palaeoworld*, 2020, vol. 29, no. 2, pp. 405–425. <https://doi.org/10.1016/j.palwor.2019.05.004>.
 11. Mouraviev F.A., Silantiev V.V., Gareev B.I., Batalin G.A., Vybornova I.B. Paleosols from the Urzhumian (Middle Permian) reference section, Kazan Volga region, Russia. *Proc. Int. Multidiscip. Sci. GeoConf. Surv. Geol. Ecol. Manage., SGEM*, 2018, vol. 18, no. 1.1, pp. 387–394.
 12. Silantiev V., Arefiev M., Mouraviev F., Bulanov V., Ivanov A., Urazaeva M., Bakaev A., Zharinova V. The parastratotype of the Urzhumian Stage in the Vyatka-Kazan region, East-European Platform. In: Barclay M., Nikolaeva S., Silantiev V. (Eds.) *Kazan Golovkinsky Stratigraphic Meeting, 2017: Advances in Devonian, Carboniferous and Permian Research: Stratigraphy, Environments, Climate and Resources*. Bologna, Filodiritto Int. Proc., 2018, pp. 206–215.
 13. Arefiev M.P., Silantiev V.V. Sedimentological and geochemical criteria for the determination of cyclicity in the reference section of Urzhumian and Severodvinian Stages “Monastyrskii ravine” (Kazan Volga region). *Materialy 10 Ural'skogo litologicheskogo soveshaniya “Virtual'niye i real'niye litologicheskiye modeli”* [Proc. 10th Uralian Lithological Conf.: Virtual and Real Lithological Models]. Yekaterinburg, IGG Ural. Otd. Ross. Akad. Nauk, 2014, pp. 18–20. (In Russian)
 14. Mouraviev F.A., Arefiev M.P., Silantiev V.V. Paleosols and pedostratigraphy of the Urzhumian (Middle Permian) deposits of the Kazan Volga region. In: *Abstract Volume of Kazan Golovkinsky Stratigraphic Meeting, 2019 “Late Paleozoic Sedimentary Earth Systems: Stratigraphy, Geochronology, Petroleum Resources”*. Kazan, Kazan Fed. Univ. Press, 2019, pp. 173–174.
 15. Retallack G.J. Field recognition of paleosols. In: Reinhardt J., Sigleo W.R. *Paleosols and Weathering Through Geologic Time: Principles and Applications*. Ser.: GSA Special Papers, 1988, vol. 216, pp. 1–21. <https://doi.org/10.1130/SPE216-p1>.
 16. Mack G.H., James W.C., Monger H.C. Classification of paleosols. *Geol. Soc. Am. Bull.*, 1993, vol. 105, no. 2, pp. 129–136. [https://doi.org/10.1130/0016-7606\(1993\)105<0129:COP>2.3.CO](https://doi.org/10.1130/0016-7606(1993)105<0129:COP>2.3.CO).
 17. Nesbitt H.W., Young G.M. Early Proterozoic climates and plate motions inferred from major element chemistry of lutites. *Nature*, 1982, vol. 299, no. 5885, pp. 715–717. <https://doi.org/10.1038/299715a0>.
 18. Sheldon N., Retallack G., Tanaka S. Geochemical climofunctions from North American soils and application to paleosols across the Eocene–Oligocene boundary in Oregon. *J. Geol.*, 2002, vol. 110, no. 6, pp. 687–696. <https://doi.org/10.1086/342865>.
 19. Sheldon N.D., Tabor N.J. Quantitative paleoenvironmental and paleoclimatic reconstruction using paleosols. *Earth-Sci. Rev.*, 2009, vol. 95, nos. 1–2, pp. 1–52. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2009.03.004>.
 20. Retallack G.J. Pedogenic carbonate proxies for amount and seasonality of precipitation in paleosols. *Geology*, 2005, vol. 33, no. 4, pp. 333–336. <https://doi.org/10.1130/G21263.1>.
 21. Kraus M.J. Paleosols in clastic sedimentary rocks: Their geologic applications. *Earth-Sci. Rev.*, 1999, vol. 47, nos. 1–2, pp. 41–70. [https://doi.org/10.1016/S0012-8252\(99\)00026-4](https://doi.org/10.1016/S0012-8252(99)00026-4).
 22. Vepraskas M.J. Redoximorphic features for identifying aquic conditions. *Tech. Bull. Raleigh, NC, Agric. Res. Serv., N. C. State Univ.*, 1992, vol. 301, pp. 1–33.
 23. Naugolnykh S.V. Paleosols of the Permian and Early Triassic. In: Semikhatova M.A., Chumakova N.M. *Klimat v epokhi krupnykh biosfernykh perestroek* [Climate in the Epochs of Major Biospheric Transformations]. Moscow, Nauka, 2004, pp. 221–229. (In Russian)

24. Nurgaliev D.K., Silantiev V.V., Nikolaeva S.V. (Eds.) *Type and Reference Sections of the Middle and Upper Permian of the Volga and Kama River Regions. A Field Guidebook of XVIII International Congress on Carboniferous and Permian*. Kazan, Kazan Univ. Press, 2015. 208 p. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.2619.1206>.
25. North American Commission on Stratigraphic Nomenclature. North American Stratigraphic Code. *AAPG Bull.*, 1983, vol. 67, no. 5, pp. 841–875.
26. WG on definitions used in paleopedology. In: *Paleopedology Glossary*, 1997. URL: <http://fadr.msu.ru/inqua/nl-14/glossary.html>.
27. Constantini E.A.S. Paleosols and pedostratigraphy. *Appl. Soil Ecol.*, 2018, vol. 123, pp. 597–600. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.09.021>.
28. Kabanov P.B., Alekseeva T.V., Alekseeva V.A., Alekseev A.O., Gubin S.V. Paleosols in late Moscovian (Carboniferous) marine carbonates of the East European craton revealing “great calcimagnesian plain” paleolandscapes. *J. Sediment. Res.*, 2010, vol. 80, pp. 195–215. <https://doi.org/10.2110/jsr.2010.026>.
29. Mirnov R.V., Alekseeva T.V. Paleosols in the Kashira deposits in the south of the East European Craton (Republic of Bashkortostan): Characteristics, paleoecological and stratigraphic significance. *Litosfera*, 2022, vol. 22, no. 5, pp. 694–704. <https://doi.org/10.24930/1681-9004-2022-22-5-694-704>. (In Russian)
30. Joeckel R.M. Virgilian (Upper Pennsylvanian) paleosols in the Upper Lawrence Formation (Douglas Group) and in the Snyderville Shale Member (Oread Formation, Shawnee Group) of the Northern Midcontinent, USA: Pedologic contrasts in a cyclothem sequence. *J. Sediment. Res.*, 1994, vol. A64, no. 4, pp. 853–866. <https://doi.org/10.1306/d4267ee7-2b26-11d7-8648000102c1865d>.
31. Retallack G.J. Cambrian, Ordovician and Silurian pedostratigraphy and global events in Australia. *Aust. J. Earth Sci.*, 2009, vol. 56, no. 4, pp. 571–586. <https://doi.org/10.1080/08120090902806321>.

Для цитирования: Муравьев Ф.А., Кропотова Т.В., Гареев Б.И., Баталин Г.А. Педокомплексы уржумских отложений Казанского Поволжья (Восточная Европа): пример палеоклимата и палеоландшафтов субтропиков континентальной Пангеи в средней перми // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2024. Т. 166, кн. 1. С. 145–168. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.1.145-168>.

For citation: Mouraviev F.A., Kropotova T.V., Gareev B.I., Batalin G.A. Urzhumian pedocomplexes of the Kazan Volga region (Eastern Europe): An example of paleoclimate and paleolandscapes of the subtropics of the continental Pangea in the Middle Permian. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2024, vol. 166, no. 1, pp. 145–168. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.1.145-168>. (In Russian)

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

УДК 550.3+551.444+556+550.8.05

doi: 10.26907/2542-064X.2024.1.169-182

ТЕМПЕРАТУРНЫЙ ФАКТОР ПРИ ВЫДЕЛЕНИИ ЗОН СУБАКВАЛЬНОЙ РАЗГРУЗКИ ПРИПОВЕРХНОСТНЫХ ВОД

А.В. Татаркин, П.А. Красильников

*Пермский государственный национальный исследовательский университет,
г. Пермь, 614068, Россия*

Аннотация

В статье рассмотрены теоретические предпосылки совершенствования технологии акваториальных исследований, включающей в себя комплекс методов термометрии и резистивиметрии. Проведена оценка переходных процессов, влияющих на изменение температуры в системе «вода–воздух», что указывает на необходимость учета тепловых характеристик всех элементов. На основе теории теплообмена и предложенной идеи о выделении источника из общего температурного поля получено выражение для его расчета. Локализация зон субаквальной разгрузки приповерхностных вод определяется разницей температур в водотоке и источнике. Многофакторный анализ, основанный на использовании абсолютной величины и знака разностного параметра, в совокупности с минерализацией воды указывает на тип ее распространения по глубине. По результатам теоретических исследований выполнены успешная апробация и верификация полученных критериев на одном из водотоков промышленной агломерации Пермского края, что подтверждает перспективность применения этих подходов при решении гидрогеологических задач.

Ключевые слова: гидрогеологические условия, водоток, подземные воды, субаквальная разгрузка, поиск, термометрия, резистивиметрия.

Введение

Мониторинг природно-технических систем имеет большое значение при разработке природоохранных мероприятий и изучении инженерно-геологических условий районов промышленных агломераций [1, 2]. Эффективность принятия решений по защите от негативных воздействий во многом зависит от используемых подходов и экологической обстановки исследуемых объектов [3]. При этом одним из важных элементов мониторинга является качественная и количественная оценка минерализации поверхностных и подземных вод в совокупности с обнаружением зон их разгрузки.

При выполнении гидрогеологических и гидрологических исследований в большинстве случаев определение минерализации осуществляется точно – методом опробования из различных известных источников воды с целью ее дальнейшего изучения в лабораторных условиях. Следует отметить, что указанный подход не всегда обеспечивает получение информации о пространственных закономерностях изучаемых ореолов засоления в полной мере.

В подобных ситуациях полезным является привлечение геофизических методов, которые позволяют оперативно получить более детальную информацию об исследуемом объекте практически в непрерывном режиме. Предпосылкой использования геофизических методов, основанных на изучении электрических полей, является обратно пропорциональная связь между минерализацией воды и ее удельным электрическим сопротивлением.

Однако, как следует из физических основ, на достоверность определения удельного электрического сопротивления веществ существенным образом влияет также их температура. Кроме того, тепловые вариации воды имеют большое значение при выявлении областей разгрузки приповерхностных и подземных вод [4]. В связи с этим вышеперечисленные аспекты, связанные с температурным фактором при проведении геофизических исследований в рамках мониторинга приповерхностной гидросферы, являются актуальными для получения достоверной информации, не зависящей от внешних воздействий [5, 6].

Целью проводимых исследований являются оценка влияния внешних температурных вариаций на результаты акваториальных наблюдений и поиск интерпретационных критериев для выявления и локализации зон разгрузки подземных вод на примере одной из промышленных агломераций.

1. Теоретические основы и методология исследований

При исследовании акваторий важную роль играет местоположение выполнения измерений во внутренних точках изучаемой среды, которые могут располагаться в интервале глубин от поверхности водотока до донных отложений. Наиболее эффективным, но менее производительным является применение методики термозондирования. Данный способ позволяет получить практически непрерывную информацию по глубине [7].

Однако в ситуациях, когда морфология дна претерпевает большие изменения и величина толщи воды существенно меняется, измерения ограничиваются одним или двумя значениями температуры в поперечном профиле водотока, включая донные отложения. В таких случаях заметное влияние на результаты измерений оказывают суточные вариации температуры в совокупности со скоростными характеристиками потока поверхностных вод.

В плане мониторинговых наблюдений перспективным является использование технологии волоконно-оптического измерения температуры, когда в качестве термодатчиков используется само волокно [3, 8, 9]. Физическими предпосылками являются рэлеевское и рамановское рассеяние света, проявляющиеся в локальных изменениях свойств световодов при вариациях температуры или давления.

Возможность выделения источников разгрузки подземных вод в поверхностных водотоках связана с их температурной дифференциацией. Так, например, в летний период данная разница температур может находиться в диапазоне от 4 до 20 °С. При этом наибольший перепад значений характерен в теплую фазу и для участков русел, имеющих медленное течение с невыраженной морфологией рельефа местности.

При рассмотрении процессов, влияющих на температуру воды, можно представить систему, в которой взаимодействуют два вещества в различных

фазах: воздух и вода. Между данными фазами возникают переходные процессы в виде испарения и конденсации, которыми на данный момент можно пренебречь ввиду их наименьшего влияния во времени. Кроме того, большие величины теплового потока солнечного тепла и разница в теплопроводности двух фаз способствуют меньшему времени нагрева воды при значительном периоде ее охлаждения.

В качестве примера ниже представлен график изменения температуры тела t_1 в газообразной окружающей среде с температурой $t_2 = 20^\circ\text{C}$ (рис. 1) по расчетам, в основе которых лежит закон Ньютона – Рихмана [10] для случая эквивалентных масс. Как видно из графика, двукратное увеличение температуры происходит в течение первых 20 мин, а трехкратное – в течение часа. Такие изменения могут оказывать существенное воздействие на измерения, проводимые в течение суточных колебаний.

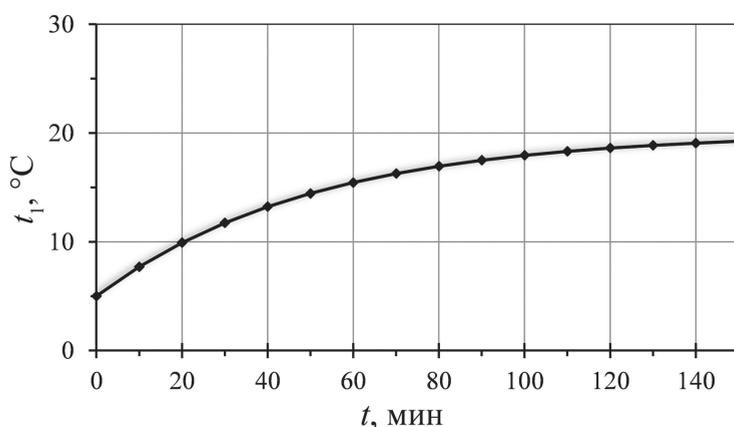


Рис. 1. График изменения температуры тела $t_1 = 5^\circ\text{C}$, помещенного в окружающую среду с температурой $t_2 = 20^\circ\text{C}$

Из вышесказанного следует, что температура воды в водотоке (t_j) является результатом суперпозиции температурных полей воздуха (t_c) и подземных источников (t_i) [11, 12] (уравнение 1):

$$t_j = t_c + \sum_{j=1}^n (F_{ij} t_{ij}), \quad (1)$$

где F_{ij} – коэффициенты теплоотдачи.

Таким образом, итоговый результат будет всегда представлен в виде суммы температурных полей от различных источников и стоков тепла.

Эффект теплового воздействия (перегрева) Q в системе может быть представлен как сумма тепловых источников t_i и коэффициентов их теплоотдачи F (уравнение 2):

$$Q = \sum_{j=1}^n (F_{ij} t_{ij}) = t_j - t_c. \quad (2)$$

То есть в простейшем виде температура источника равняется разнице температур водотока и воздуха.

В соответствии с законом Рихмана для определения температуры смеси T_m двух веществ различной температуры (t_1, t_2), массы (m_1, m_2) и теплоемкости (C_1, C_2) используется уравнение 3:

$$t_m = \frac{m_1 C_1 t_1 + m_2 C_2 t_2}{m_1 C_1 + m_2 C_2} \quad (3)$$

Используя уравнение 3, можно рассмотреть два случая. В первом принимаются во внимание масса и теплоемкость взаимодействующих веществ, а во втором – только теплоемкость. С учетом величин теплоемкости воздуха и воды при условии эквивалентности взаимодействующих масс формула для расчета температуры смеси (уравнение 4) имеет следующий вид:

$$t_j = \frac{4200t_i + 1000t_c}{4200 + 1000}, \quad (4)$$

откуда выражение для температуры источника описывается уравнением 5:

$$t_i = 1.24t_j - 0.24t_c. \quad (5)$$

Дифференциация температуры в водотоке зависит от многих факторов. Наибольшее влияние на однородность теплового поля воды оказывают такие факторы, как скорость течения и морфология дна, которые участвуют в процессе перемешивания масс. При этом величина теплового стока может существенно варьироваться в зависимости от климатических условий. Кроме того, по результатам анализа общедоступных данных о температуре в водоемах относительно температуры окружающей среды, отмечается тепловая инерция, отображающаяся во временном отставании на величину порядка двух часов. Этот аспект указывает на появление трудностей при рассмотрении совокупности измерений, полученных в различные временные интервалы.

Таким образом, в качестве интерпретационного критерия целесообразно применить разностный параметр, который свидетельствует о наличии подземных источников в русловой части водотоков. Так, например, в летний период о разгрузке подземных вод свидетельствуют положительные значения этого параметра. В зимнее же время или переходный период, когда температура источников, как правило, превышает температуру в водотоках, происходит инверсия разностного параметра и выявление зон разгрузки вод из подземных горизонтов осуществляется по отрицательным значениям.

Величина разницы температур между водотоком и источником для выделения зон разгрузки в конечном виде будет выглядеть следующим образом (уравнение 6):

$$\Delta t = t_j - t_i = 0.24(t_c - t_j) = \frac{C_{\text{воздуха}}}{C_{\text{воды}}}(t_c - t_j). \quad (6)$$

Следует отметить, что при применении многофакторного анализа для локализации и геометризации зон активного водообмена целесообразно введение обобщенного комплексного параметра, основанного на использовании тепловых характеристик в совокупности с определением минерализации в поверхностных водотоках.

Оценка минерализации поверхностных и подземных вод осуществляется по удельному электрическому сопротивлению, которое также зависит от температуры и концентрации солей. Как известно, увеличение массовой доли солей и температуры водных растворов повышает их электрическую проводимость. Взаимосвязь данных параметров по лабораторным исследованиям, в частности

для раствора хлорида натрия, представлена на рис. 2. Для описания данной зависимости может быть использовано уравнение $y = 5.682x - 0.984$ при аппроксимации с величиной достоверности R^2 , равной 0.9996.

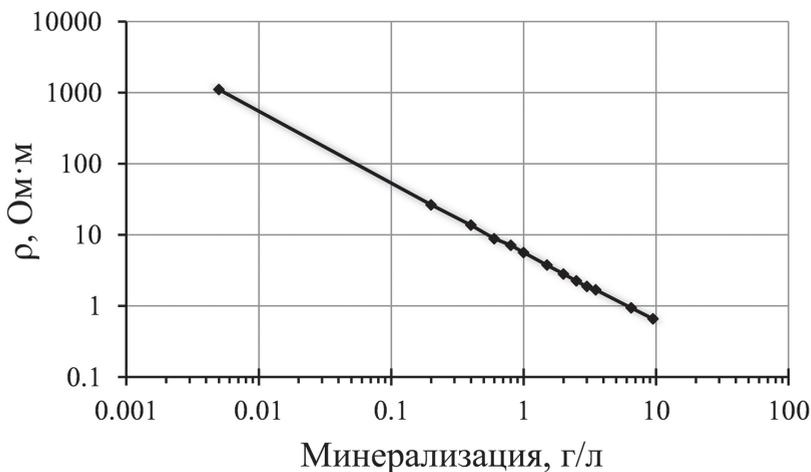


Рис. 2. Зависимость удельного электрического сопротивления (ρ) от минерализации раствора хлорида натрия при температуре воды, равной 20 °C

При оценке минерализации вод по электрическому сопротивлению температурный фактор также является важной составляющей, которая существенным образом влияет на ее абсолютные значения. Для учета данного показателя натурные наблюдения удельного электрического сопротивления, как правило, сопровождаются измерениями температуры воды, которые в дальнейшем могут быть учтены для корректной интерпретации получаемых результатов. Определение количественных характеристик выполняется по известным формулам [13, 14] для приведения их к одному уровню температуры, как правило, к 20 °C.

Следует отметить, что температура грунтовых вод может изменяться по ряду причин эндогенного или экзогенного характера. В зависимости от инженерно-геологических условий исследуемых территорий наибольшее воздействие на это оказывают такие компоненты геологической среды, как глубина залегания, состав грунта, климатические условия региона и т. д. Обычно температура грунтовых вод ниже температуры окружающей среды на 20–50%. В качестве примера на рис. 3 и 4 приведены сезонные изменения температуры грунтового массива и вариации среднемесячных температур в августе, полученные в рамках мониторинговых наблюдений одной из площадок г. Перми [15].

Исходя из анализа графиков, представленных на рис. 3 и 4, можно сделать вывод о стабилизации теплового поля с глубины порядка 9 м, где ожидаемая температура подземных вод для центральной части данного региона будет составлять около 11 °C. До глубины 9 м сезонные вариации температуры подземных вод находятся в интервале 4–18 °C с наибольшими изменениями в верхней части разреза до 2 м.

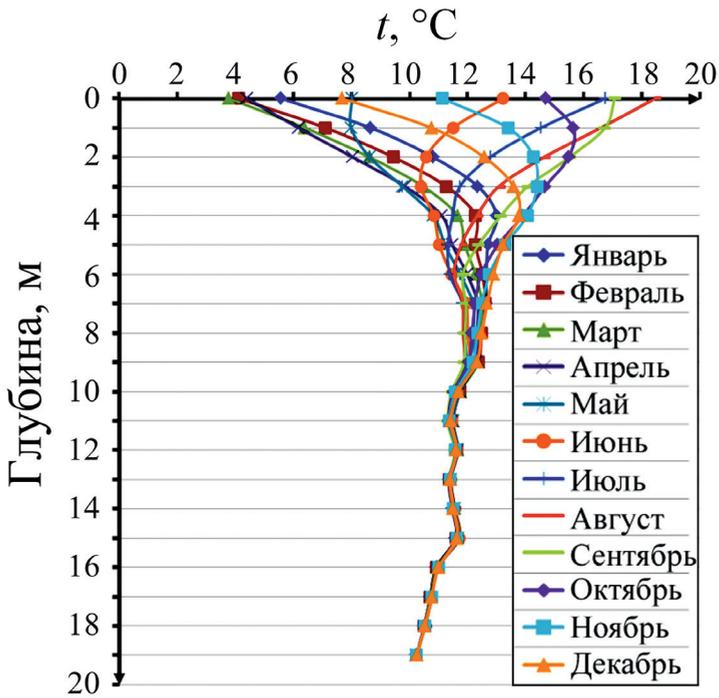


Рис. 3. Изменение среднемесячных температур с глубиной в рамках пятилетних режимных наблюдений [15]

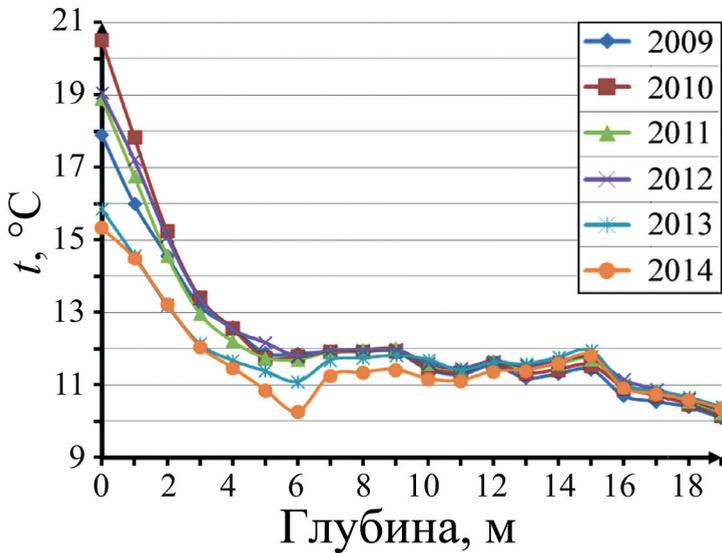


Рис. 4. Графики вариаций по глубине среднемесячных температур в августе в период с 2009 по 2014 гг. [15]

Таким образом, с учетом вышесказанного для достижения поставленной цели исследования необходимо решение следующих задач:

- выбор объекта исследований;
- анализ априорной информации по изучаемому объекту;
- проведение натурных наблюдений;

- сравнительный анализ и выявление закономерностей в рамках сопоставления теоретических и экспериментальных данных;
- верификация исследований;
- оценка влияния температурного фактора системы «вода-воздух» при изучении гидрогеологических условий и повышение достоверности данных.

2. Объект исследований

В качестве объекта для изучения выбран один из участков гидрографической сети в пределах Верхнекамского месторождения калийных и магниевых солей. На исследуемой территории выделяются четыре крупных водоносных комплекса [16–18]. Первый из них залегает в четвертичных отложениях, распространяется в аллювии водотоков и представлен переслаиванием дисперсных пород мощностью порядка 10 м со средним коэффициентом фильтрации 0.1 м в сутки [17, 18].

Ниже располагается второй горизонт – шешминский (P_{Jss}), максимальная мощность которого достигает 100 м. Питание данного горизонта осуществляется за счет инфильтрации атмосферных осадков, а разгрузка наблюдается в аллювий рек посредством родников нисходящего типа с дебитом до 4 л/с и гидрокарбонатно-кальциевой минерализацией до 0.4 г/л. Минерализация достигает своих максимальных значений за счет вертикальной миграции с нижнего горизонта соляно-мергельной толщи (СМТ) или антропогенного воздействия от промышленных объектов [19]. Наряду с этим в составе начинают преобладать сульфаты и хлориды. Следует подчеркнуть сильную дифференциацию водопроницаемости пород по вертикали.

Залегающий ниже терригенно-карбонатный комплекс (ТКТ) по вертикали делится на две части и подпитывается вышележащими горизонтами с разгрузкой преимущественно в пестроцветных отложениях аллювия долин рек и низовьев их притоков. В среднем проводимость пород ТКТ составляет 200 м²/сут, в долинах малых рек водопроницаемость увеличивается до 300–500 м²/сут. Минерализация в горизонте варьируется от 0.3 до 1 г/л с преобладанием в составе ионов натрия и калия. Далее по глубине концентрация солей хлоридов натрия возрастает до 300 г/л [20].

Значительные разности напоров в СМТ и ТКТ показывают, что СМТ хорошо изолирована от ТКТ. Фильтрационные свойства СМТ достаточно низкие.

Водоупорная, практически абсолютно соляная толща иренского горизонта кунгурского яруса нижней перми (P_{Iir}) ограничивает гидрогеологическую систему снизу, и его кровлей считается «соляное зеркало», расположенное в низах СМТ.

По данным инженерных изысканий в пределах объекта исследований обнаружены три водоносных горизонта. Наиболее близкий к поверхности водоносный горизонт располагается на глубине порядка 2 м. Водовмещающие породы представлены мягкопластичными суглинками. Второй от поверхности водоносный горизонт находится в пойме существующих водотоков. Водовмещающими породами являются суглинки, супеси и глины. Третий от поверхности водоносный горизонт отнесен к переслаивающимся алевролитам и песчаникам.

3. Результаты исследований

В рамках натурных наблюдений на выбранном водотоке протяженностью 2,6 км проведены исследования методами термометрии и резистивиметрии. Точки измерений располагались в интервалах глубин от 4 до 10 см ниже уровня воды с шагом по руслу, соответствующим 10 м. В качестве измерительной схемы для определения удельного электрического сопротивления мы использовали четырехэлектродную установку Веннера с расстоянием 2,5 см между электродами, расположенными в горизонтальной плоскости. Параллельно выполняли изучение температуры в двух точках. Одна из них находилась в воде вместе с установкой для определения удельного электрического сопротивления [21], а другая располагалась на высоте 1,5 м от уреза воды. Наблюдения были выполнены за один суточный цикл в июне 2022 г.

В качестве аппаратурных средств использовали современные комплексы: АМС-1, АРРА-107N, ТМ-6801BS-Line. Перед началом исследований проводили тарировку зондов и датчиков на образцах воды с известной минерализацией и температурой. Погрешность полевых наблюдений составила менее 3%. Полученные данные термометрии и резистивиметрии в контексте рассмотренной выше методологии представлены в виде графиков на рис. 5.

По результатам совместного анализа наблюдаемых графиков изменения температур (рис. 5, а) отмечаются фазовые переходы, отображающиеся в периодическом преобладании того или иного измеренного параметра. Значения температуры источника, полученные по уравнению 5, наиболее приближены к температуре в водотоке, при этом температура воздуха, как правило, превышает данный показатель, за исключением конечной (вечерней) фазы цикла натурных наблюдений (пикеты 192–265). Данный факт указывает на то, что климатические условия с учетом процессов теплообмена могут оказывать значительное влияние на формирование температурного режима подземных вод, а идентификация источников разгрузки подземных вод по одному параметру является весьма затруднительной и неоднозначной.

В то же время оценка разностной характеристики указывает на наличие дифференциации между областями с одинаковым знаком данного параметра. Кроме того, следует отметить присутствие локальных аномалий Δt , отличающихся от фоновых значений в 1,5–2 раза (рис. 5, б). Отмеченные выше аномалии имеют четкую корреляцию с относительной минерализацией по данным резистивиметрии (рис. 5, в).

Исходя из теоретических основ, представленных выше, положительные значения разностного параметра указывают на подземную локализацию источников и, наоборот, отрицательные величины свидетельствуют о приповерхностном или поверхностном характере движения воды. По результатам комплексного анализа с учетом полученных критериев и верификации данных на местности выделены основные (аномальные) источники притоков воды, а также выполнено их типовое разделение (табл. 1).

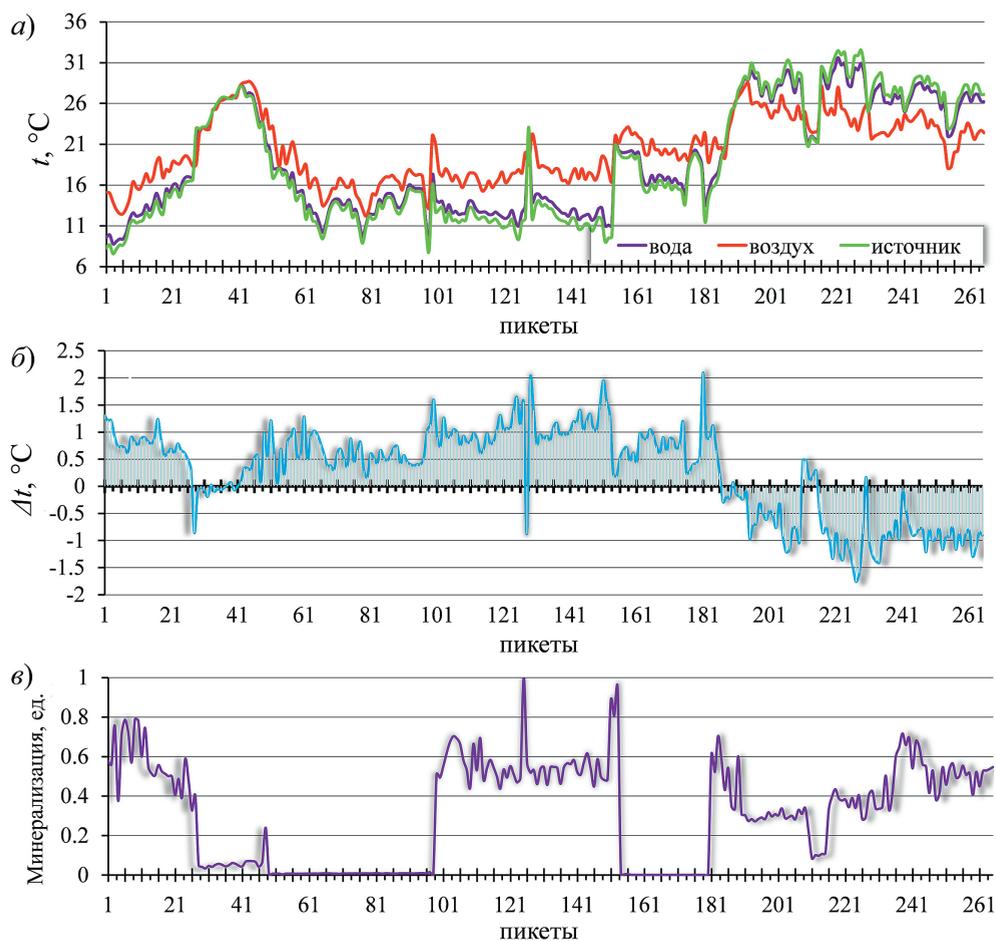


Рис. 5. Графики изменения температуры воды, воздуха, источника (а), разностного параметра температур (б) и относительной минерализации (в)

Табл. 1

Характеристика выделенных источников воды

№	Расположение, пикет	$\Delta t, ^\circ\text{C}$	Относительная минерализация, ед.	Тип залегания	Верификация
1	17	+1.2	0.5	подземный	родник
2	28	-0.8	0.4	поверхностный	приток
3	48	+0.1	0.2	поверхностный	дренаж
4	128	-0.9	1.0	поверхностный	приток
5	129	+2.0	0.5	подземный	родник
6	151	+1.9	0.9	подземный	родник
7	211	+0.5	0.1	подземный	родник

Сопоставление полученных данных с натурным обследованием предполагаемых мест разгрузки указывает на хорошую верификацию прогнозных значений разностного параметра Δt . В частности, все положительные аномалии носят глубинный характер и подтверждены наличием разгрузки подземных вод в виде род-

ников. В то же время в зонах с отрицательными значениями Δt обнаружены участки инфильтрации поверхностных вод природного или техногенного характера.

Следует обратить внимание на то, что показатели разности температур, близкие к нулевой отметке, свидетельствуют о смешанном типе источника и наличии более сложных гидрогеологических условий. Это обусловлено разгрузкой из нескольких водоносных горизонтов, гидравлически связанных с поверхностными стоками.

Заключение

Для поиска мест разгрузки поверхностных и подземных вод в существующие водотоки рассмотрен подход, основанный на учете температуры воздуха при гидрогеологических исследованиях. Теоретически обосновано и экспериментально подтверждено, что учет влияния температурных характеристик системы «вода-воздух» позволяет идентифицировать и дифференцировать источники поверхностных и подземных вод.

Таким образом, для повышения достоверности результатов гидрогеологических исследований [22] необходимо использование дополнительных характеристик, связанных с экзогенными процессами, а именно разностного параметра температур водотока и окружающей среды. Это позволяет более точно определять места разгрузки подземных и поверхностных вод с целью дальнейшего принятия обоснованных проектных решений.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. *Vaganov S., Blinov S., Belkin P., Perevoshchikov R.* The role of subaquatic springs in the formation of flow, temperature and chemical composition of river water in the reserve // *J. Ecol. Eng.* 2022. V. 23, No 3. P. 39–48. <https://doi.org/10.12911/22998993/145465>.
2. *Conner A., Gooseff M.N., Chen X., Arntzen E., Garayburu-Caruso V.* Groundwater inflows to the Columbia River along the Hanford Reach and associated nitrate concentrations // *Front. Water.* 2021. V. 3. Art. 574684. <https://doi.org/10.3389/frwa.2021.574684>.
3. *Briggs M.A., Harvey J.W., Hurley S.T., Rosenberry D.O., McCobb T., Werkema D.D., Lane Jr. J.W.* Hydrogeochemical controls on brook trout spawning habitats in a coastal stream // *Hydrol. Earth Syst. Sci.* 2018. V. 22, No 12. P. 6383–6398. <https://doi.org/10.5194/hess-22-6383-2018>.
4. *Гринеvский С.О., Прокофьев В.В.* К методике проведения и интерпретации термометрических измерений для выявления зон субаквальной разгрузки подземных вод // *Вест. Моск. ун-та. Серия 4. Геология.* 2005. № 3. С. 55–61.
5. *Vaccaro J.J., Maloy K.J.* A Thermal Profile Method to Identify Potential Ground-Water Discharge Areas and Preferred Salmonid Habitats for Long River Reaches: U.S. Geological Survey Scientific Investigations Report 2006-5136. Reston, VA: U.S. Dep. Inter., U.S. Geol. Surv., 2006. 16 p. <https://doi.org/10.3133/sir20065136>.
6. *Hammett S., Day-Lewis F.D., Trottier B., Barlow P.M., Briggs M.A., Delin G., Harvey J.W., Johnson C.D., Lane Jr. J.W., Rosenberry D.O., Werkema D.D.* GW/SW-MST: A ground-water/surface-water method selection tool // *Groundwater.* 2022. V. 60, No 6. P. 784–791. <https://doi.org/10.1111/gwat.13194>.

7. Козак С.З. Методические рекомендации по применению комплекса геофизических методов при гидрогеологических и геоэкологических исследованиях на акваториях. М.: Министерство природных ресурсов РФ; ГИДЭК, 2002. 55 с.
8. Качура С.М., Постнов В.И. Перспективные оптоволоконные датчики и их применение (обзор) // Труды ВИАМ. 2019. № 5 (77). С. 52–61. <https://doi.org/10.18577/2307-6046-2019-0-5-52-61>.
9. Zhu P., Xie X., Sun X., Soto M.A. Distributed modular temperature-strain sensor based on optical fiber embedded in laminated composites // Composites, Part B. 2019. V. 168. P. 267–273. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2018.12.078>.
10. Рихман Г.В. Труды по физике. М.: Изд-во АН СССР, 1956. 711 с.
11. Кутателадзе С.С. Основы теории теплообмена. 5-е изд., перераб. и доп. М.: Атомиздат, 1979. 416 с.
12. Дульнев Г.Н., Семяшкин З.М. Теплообмен в радиоэлектронных аппаратах. Л.: Энергия, 1968. 360 с.
13. Рыжов А.А., Судоплатов А.Д. Расчет удельной электропроводности песчано-глинистых пород и использование функциональных зависимостей при решении гидрогеологических задач // Научно-технические достижения и передовой опыт в области геологии и разведки недр: науч.-техн. информ. сб. ВИЭМС. 1990. С. 27–41.
14. Стромберг А.Г., Семченко Д.П. Физическая химия: учеб. для хим. спец. вузов. М.: Высшая школа, 2001. 527 с.
15. Захаров А.В., Пономарев А.Б. Мониторинг температурных полей грунтов г. Перми // Вестник ПНИПУ. Строительство и архитектура. 2015. № 4. С. 103–112. <https://doi.org/10.15593/2224-9826/2015.4.08>.
16. Сеннов А.С. О возможном подходе к гидродинамической схематизации надсолевой толщи Верхнекамского месторождения калийных солей // Горный журнал. 2016. № 4. С. 48–51. <https://doi.org/10.17580/gzh.2016.04.09>.
17. Лю Ю., Лехов А.В. Моделирование изменения фильтрационных параметров загипсованных пород при фильтрации рассолов // Геоэкология. Инженерная геология. Гидрогеология. Геоэкология. 2012. № 6. С. 551–559.
18. Килин Ю.А., Минькевич И.И., Жуланов Г.С. Особенности химического состава подземных вод на Талицком участке ВКМС // Проблемы минералогии, петрографии и металлогении. Научные чтения памяти П.Н. Чирвинского. 2023. № 26. С. 108–116. <https://doi.org/10.17072/chirvinsky.2023.108>.
19. Красильников П.А., Мещерякова О.Ю., Татаркин А.В. Геоинформационный подход к оценке и прогнозу изменений инженерно-геологических условий на подработанных территориях // Инженерная геология. 2021. Т. XVI, № 4. С. 48–60. <https://doi.org/10.25296/1993-5056-2021-16-4-48-60>.
20. Кудряшов А.И. Верхнекамское месторождение солей. 2-е изд., перераб. М.: Эpsilon Плюс, 2013. 371 с.
21. Гилева М.И., Татаркин А.В., Филлимончиков А.А. К вопросу определения удельного электрического сопротивления дисперсных грунтов в лабораторных условиях // Вестник Пермского университета. Геология. 2014. Вып. 1 (22). С. 44–48.
22. Клецкина О.В., Красильников П.А., Татаркин А.В. Гидрогеохимическая оценка состояния поверхностных вод и выделение зоны влияния объекта размещения отходов в пределах Кирово-Чепецкого промышленного комплекса // Вестник Пермского университета. Геология. 2022. Т. 21, № 2. С. 180–189. <https://doi.org/10.17072/psu.geol.21.2.180>.

Поступила в редакцию 06.07.2023

Принята к публикации 07.10.2023

Татаркин Алексей Викторович, доктор технических наук, профессор кафедры инженерной геологии и охраны недр

Пермский государственный национальный исследовательский университет
ул. Букирева, д. 15, г. Пермь, 614068, Россия
E-mail: vsto08@mail.ru

Красильников Павел Анатольевич, доктор геолого-минералогических наук, доцент, декан геологического факультета

Пермский государственный национальный исследовательский университет
ул. Букирева, д. 15, г. Пермь, 614068, Россия
E-mail: geolnauka@gmail.com

ISSN 2542-064X (Print)
ISSN 2500-218X (Online)

UCHENYE ZAPISKI KAZANSKOGO UNIVERSITETA. SERIYA ESTESTVENNYE NAUKI

(Proceedings of Kazan University. Natural Sciences Series)

2024, vol. 166, no. 1, pp. 169–182

ORIGINAL ARTICLE

doi: 10.26907/2542-064X.2024.1.169-182

The Temperature Factor in Selecting the Areas of Subaqueous Discharge of Near-Surface Water

A.V. Tatarkin, P.A. Krasilnikov***

Perm State National Research University, Perm, 614068 Russia

*E-mail: *vsto08@mail.ru, **geolnauka@gmail.com*

Received July 6, 2023; Accepted October 7, 2023

Abstract

This article considers the theoretical grounds for advancing the existing aquatic research techniques, including a complex of thermometry and resistivity methods. The transient processes that influence the temperature change in the “water–air” system were explored. The need to take into account the thermal characteristics of all elements involved was highlighted. Using the theory of heat exchange and the idea that the water source can be distinguished from the general temperature field, a formula for measuring the general temperature field was derived. It was found that the areas of subaqueous discharge of near-surface water can be localized by the temperature difference between the watercourses and the water source. The multivariate analysis based on the absolute value and sign of the difference temperature parameter was used to determine the salinity value and the changes of the salinity type with depth. The criteria obtained during the theoretical studies were successfully tested and verified on a watercourse located within the industrial agglomeration of the Perm region, which indicates their high potential for solving practical hydrogeological problems.

Keywords: hydrogeological conditions, watercourse, groundwater, subaqueous discharge, search, thermometry, resistivity

Conflicts of Interest. The authors declare no conflicts of interest.

Figure Captions

Fig. 1. Graph of the temperature changes in the body with $t_1 = 5^\circ\text{C}$ placed in the environment with $t_2 = 20^\circ\text{C}$.

Fig. 2. Relationship between the specific electrical resistance (ρ) and the level of salinity in a sodium chloride solution at the water temperature of 20°C .

Fig. 3. Variations in the average monthly temperatures at different depths based on five years of monitoring observations [15].

Fig. 4. Graphs of the variations in the average monthly temperatures of August from 2009 to 2014 at different depths [15].

Fig. 5. Graphs of the changes in the temperatures of water, air, and water source (a), as well as in the difference temperature parameter (b) and relative salinity (c).

References

1. Vaganov S., Blinov S., Belkin P., Perevoshchikov R. The role of subaquatic springs in the formation of flow, temperature and chemical composition of river water in the reserve. *J. Ecol. Eng.*, 2022, vol. 23, no. 3, pp. 39–48. <https://doi.org/10.12911/22998993/145465>.
2. Conner A., Gooseff M.N., Chen X., Arntzen E., Garayburu-Caruso V. Groundwater inflows to the Columbia River along the Hanford Reach and associated nitrate concentrations. *Front. Water*, 2021, vol. 3, art. 574684. <https://doi.org/10.3389/frwa.2021.574684>.
3. Briggs M.A., Harvey J.M., Hurley S.T., Rosenberry D.O., McCobb T., Werkema D., Lane Jr. J.W. Hydrogeochemical controls on brook trout spawning habitats in a coastal stream. *Hydrol. Earth Syst. Sci.*, 2018, vol. 22, no. 12, pp. 6383–6398. <https://doi.org/10.5194/hess-22-6383-2018>.
4. Grinevsky S.O., Prokof'ev V.V. The methodology for conducting and interpreting thermometric measurements to identify subaqueous groundwater discharge zones. *Vestn. Mosk. Univ. Ser. 4. Geol.*, 2005, no. 3, pp. 55–61. (In Russian)
5. Vaccaro J.J., Maloy K.J. A Thermal Profile Method to Identify Potential Ground-Water Discharge Areas and Preferred Salmonidhabitats for Long River Reaches: U.S. Geological Survey Scientific Investigations Report 2006–5136. Reston, VA, U.S. Dep. Inter., U.S. Geol. Surv., 2006. 16 p. <https://doi.org/10.3133/sir20065136>.
6. Hammett S., Day-Lewis F.D., Trottier B., Barlow P.M., Briggs M.A., Delin G., Harvey J.W., Johnson C.D., Lane Jr. J.W., Rosenberry D.O., Werkema D.D. GW/SW-MST: A groundwater/surface-water method selection tool. *Groundwater*, 2022, vol. 60, no. 6, pp. 784–791. <https://doi.org/10.1111/gwat.13194>.
7. Kozak S.Z. *Metodicheskie rekomendatsii po primeneniyu kompleksa geofizicheskikh metodov pri gidrogeologicheskikh i geoekologicheskikh issledovaniyakh na akvatoriyakh* [Guidelines for the Use of a Complex of Geophysical Methods in Hydrogeological and Geoecological Studies in Water Areas]. Moscow, Minist. Priir. Resur. RF, GIDEK, 2002. 55 p. (In Russian)
8. Kachura S.M., Postnov V.I. Potential fiber optic sensors and their applications (a review). *Tr. VIAM*, 2019, no. 5 (77), pp. 52–61. <https://doi.org/10.18577/2307-6046-2019-0-5-52-61>. (In Russian)
9. Zhu P., Xie X., Sun X., Soto M.A. Distributed modular temperature-strain sensor based on optical fiber embedded in laminated composites. *Composites, Part B*, 2019, vol. 168, pp. 267–273. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2018.12.078>.
10. Richmann G.W. *Trudy po fizike* [Writings on Physics]. Moscow, Izd. Akad. Nauk SSSR, 1956. 711 p. (In Russian)
11. Kutateladze S.S. *Osnovy teorii teploobmena* [Heat Transfer Principles]. 5th revis. and enlarged ed. Moscow, Atomizdat, 1979. 416 p. (In Russian)
12. Dul'nev G.N., Semyashkin Z.M. *Teploobmen v radioelektronnykh apparatakh* [Heat Transfer in Radio-Electronic Devices]. Leningrad, Energiya, 1968. 360 p. (In Russian)
13. Ryzhov A.A., Sudoplatov A.D. Calculation of the specific electrical conductivity of sandy-clayey rocks and the use of functional dependencies in solving hydrogeological problems. In: *Nauchno-tehnicheskie dostizheniya i peredovoi opyt v oblasti geologii i razvedki nedr: Nauch.-tehn. inform. sb. VIEMS* [Recent Trends and Best Practices in Geology and Exploration: A Scientific and Technical Bulletin of the All-Russian Scientific Research Institute for Mineral Resources Economics and Geological Exploration], 1990, pp. 27–41. (In Russian)
14. Stromberg A.G., Semchenko D.P. *Fizicheskaya khimiya: ucheb. dlya khim. spets. vuzov* [Physical Chemistry: A Textbook for Chemistry Universities]. Moscow, Vyssh. Shk., 2001. 527 p. (In Russian)
15. Zaharov A.V., Ponomarev A.B. Monitoring of the temperature field of soils in Perm. *Vestn. PNIPU. Stroitel'stvo Arkhit.*, 2015, no. 4, pp. 103–112. <https://doi.org/10.15593/2224-9826/2015.4.08>. (In Russian)

16. Senov A.S. On a possible approach to hydrodynamic mapping of the post-salt strata in the Verkhnekamskoe potassium salt deposit. *Gorn. Zh.*, 2016, no. 4, pp. 48–51. <https://doi.org/10.17580/gzh.2016.04.09>. (In Russian)
17. Liu J., Lekhov A.V. Modeling changes in permeability characteristics of gypsified rocks accompanying brine flow. *Water Resour.*, 2013, vol. 40, no. 7, pp. 776–782. <https://doi.org/10.1134/S0097807813070063>.
18. Kilin Y.A., Min'kevich I.I., Zhulanov G.S. The chemical composition of groundwater in the Talitsky section of the Verkhnekamskoe salt deposit. *Problemy mineralogii, petrografii i metallogenii. Nauchnye chteniya pamyati P.N. Chirvinskogo* [Problems of Mineralogy, Petrography, and Metallogeny. Proc. Sci. Lect. in Memory of P.N. Chirvinsky], 2023, no. 26, pp. 108–116. <https://doi.org/10.17072/chirvinsky.2023.108>. (In Russian)
19. Krasilnikov P.A., Meshcheryakova O.Yu., Tatarkin A.V. Geoinformation-based approach to the assessment and prediction of changes in the geotechnical conditions in undermined territories. *Inzh. Geol.*, 2021, vol. XVI, no. 4, pp. 48–60. <https://doi.org/10.25296/1993-5056-2021-16-4-48-60>. (In Russian)
20. Kudryashov A.I. *Verkhnekamskoe mestorozhdenie solei* [Verkhnekamskoe Salt Deposit]. 2nd revis. ed. Moscow, Epsilon Plyus, 2013. 371 p. (In Russian)
21. Gileva M.I., Tatarkin A.V., Filimonchikov A.A. Determining the electrical resistivity of dispersed soils in laboratory conditions. *Vestn. Permsk. Univ. Geol.*, 2014, no. 1 (22), pp. 44–48. (In Russian)
22. Kletschina O.V., Krasilnikov P.A., Tatarkin A.V. Hydrogeochemical assessment of the state of surface waters and identification of the area affected by of the waste disposal facility of the Kirovo-Chepetsk industrial complex. *Vestn. Permsk. Univ. Geol.*, 2022, vol. 21, no. 2, pp. 180–189. <https://doi.org/10.17072/psu.geol.21.2.180>. (In Russian)

Для цитирования: Татаркин А.В., Красильников П.А. Температурный фактор при выделении зон субаквальной разгрузки приповерхностных вод // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2024. Т. 166, кн. 1. С. 169–182. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.1.169-182>.

For citation: Tatarkin A.V., Krasilnikov P.A. The temperature factor in selecting the areas of subaqueous discharge of near-surface water. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2024, vol. 166, no. 1, pp. 169–182. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.1.169-182>. (In Russian)