

**ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ КУЛЬТУР  
МОРСКИХ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ КАК ПОКАЗАТЕЛЬ  
УРОВНЯ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОД СЕВАСТОПОЛЬСКОЙ БУХТЫ**

Л.В. Стельмах, И.М. Мансурова

ФИЦ «Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН»,  
РФ, г. Севастополь, пр. Нахимова, 2  
E-mail: lustelm@mail.ru

Показана возможность использования культур планктонных микроводорослей Черного моря разной таксономической принадлежности для оценки качества водной среды на основе оценки их функционального состояния. Исследования были выполнены на диатомовой водоросли *Phaeodactylum tricornerutum*, трех видах динофитовых *Prorocentrum cordatum*, *Prorocentrum pusillum* и *Gyrodinium fissum*, а также кокколитофорида *Emiliania huxleyi*. Получено, что воды Севастопольской бухты в период с мая по август 2021 г. в 50% случаев оказывали слабое угнетающее влияние на рост тестируемых видов. В остальных случаях рост водорослей либо стимулировался, либо влияние загрязнения на культуры не обнаружено. Отмечена необходимость использования нескольких видов водорослей при проведении комплексных работ по биотестированию вод прибрежных районов Черного моря.

**Ключевые слова:** морские микроводоросли, биотестирование вод, комплексный мониторинг, Севастопольская бухта, Черное море.

Поступила в редакцию: 05.10.2021.

**Введение.** В результате активной хозяйственной деятельности человека в прибрежные воды Черного моря в районе Севастополя ежегодно поступает большое количество разнообразных химических соединений органического и неорганического происхождения [1]. Для характеристики уровня загрязнения поверхностных вод этих районов, как правило, используют два показателя: БПК<sub>5</sub> – биологическое потребление кислорода на пятые сутки и перманганатную окисляемость в щелочной среде. Первый показатель отражает уровень загрязнения среды нестойким органическим веществом, второй свидетельствует о степени загрязнения стойким органическим веществом. Предельно допустимые концентрации (ПДК) по этим двум параметрам обычно превышены преимущественно в летний период, что позволяет нам охарактеризовать исследованные воды как эпизодически загрязненные [2]. Однако большая часть загрязняющих веществ по ряду причин неизвестна, а их токсикологические характеристики не установлены. Среди них могут быть тяжелые металлы и токсичные органиче-

ские вещества антропогенного происхождения. В этих обстоятельствах только методы биотестирования позволяют получить интегральную токсикологическую характеристику природных вод. Биотестирование морских вод представляет определенную трудность, так как концентрации токсичных веществ могут лишь незначительно превышать фоновый уровень. Поэтому оправдано использование микроводорослей как чувствительных организмов к загрязнению [3]. Среди морских микроводорослей в качестве биотестов международным стандартом ISO рекомендовано к использованию пока лишь два вида диатомовых: *Phaeodactylum tricornerutum* и *Skeletonema costatum* [4]. Мы полагаем, что представители других таксономических групп водорослей могут продемонстрировать иную реакцию на загрязняющие вещества, нежели традиционно используемые два вида. Второй по значимости группой морских микроводорослей, представленной массово в фитопланктоне, являются динофитовые водоросли. Как показали наши предварительные исследования, их реакция на комплекс-

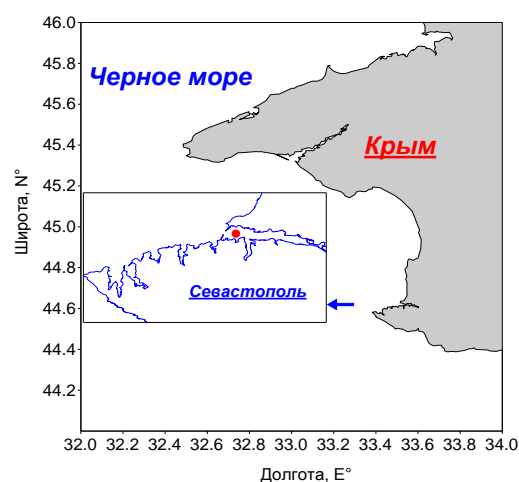
ное загрязнение прибрежных вод Черного моря часто отличается от таковой, полученной на *P. tricornerutum* [2]. Важнейшим представителем морского фитопланктона является мелкая кокколитофориды *Emiliana huxleyi*. В отдельные периоды года этот вид может вызывать «цветения воды» не только в прибрежных, но и в открытых водах Черного моря [5]. Его реакция на загрязнения может представлять значительный интерес для получения комплексной оценки уровня антропогенного воздействия на экосистему Черного моря в современных условиях.

Цель настоящей работы состояла в исследовании функционального состояния культур нескольких видов черноморских микроводорослей, выращенных в воде Севастопольской бухты, для оценки возможности их использования в биотестировании морской среды.

**Материал и методы.** Исследования выполнялись в период с мая по август 2021 г. В работе были использованы три вида альгологически чистых культур динофитовых водорослей *Prorocentrum pusillum* (J.Schiller) J.D.Dodge&Bibby, *Prorocentrum cordatum* (Ostenfeld) J.D. Dodge и *Gyrodinium fissum* (Levander) Kofoid&Swezy, один вид диатомовых *Phaeodactylum tricornerutum* Bohlin а также кокколитофориды *Emiliana huxleyi* (Lohmann) W.W.Hay&H.P.Mohler. Все виды выделены из планктона Черного моря и содержатся в коллекции отдела экологической физиологии водорослей ФИЦ ИнБЮМ.

До начала эксперимента каждую культуру адаптировали в течение нескольких суток к непрерывному свету, интенсивность которого составляла  $50\text{--}70 \text{ мкЭ}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ , что соответствует началу светового насыщения по росту для исследуемых видов водорослей. Колбы с водорослями, помещенные на световую решетку, освещали снизу, используя светодиоды. Освещенность измеряли с помощью люксметра Ю-116, коэффициент перехода от освещенности в люксах к интенсивности света –  $1000 \text{ лк} = 17 \text{ мкЭ}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$  [6]. По 10 мл адаптированных культур, находящихся в логарифмической фазе роста, помещали в колбы объемом 100 мл, куда предвари-

тельно наливали по 90 мл воды, отобранной с поверхности моря на станции, локализованной в Севастопольской бухте неподалеку от искусственно сооруженного мола (рис. 1). Отобранную воду предварительно пропускали через трековые мембраны с диаметром пор 0,2 мкм для ее очистки от взвеси и живых организмов за исключением вирусов. В контрольных колбах тестируемые водоросли были помещены в пастеризованную морскую воду, отобранную в условно чистых районах (в центре моря).



**Рис. 1.** Расположение станции отбора проб в Севастопольской бухте

**Fig. 1.** Location of the sampling station in the Sevastopol Bay

В контрольную и опытную колбы вносили питательную среду f/2, помещали их на световую решетку, где экспонировали в течение 7-ми суток при насыщающих рост интенсивностях света. Температура воды в экспериментах составляла  $20\text{--}22^\circ\text{C}$ .

В ходе экспериментов из колб с культурами микроводорослей ежедневно отбирали аликвоты для оценки численности клеток, подсчет которых проводили в счетной камере Горяева с помощью светового микроскопа ZEISS Primo Star в 3-х повторностях при общем увеличении системы  $\times 100$ . Коэффициент вариации среднего значения находился, как правило, в пределах 5–15%. Отклонение коэффициента прироста численности клеток микроводорослей рассчитывали по формуле

$$X_K = [(K_{\text{оп.}} - K_{\text{конт.}}) / K_{\text{конт.}}] \cdot 100\% ,$$

где  $X_k$  – отклонение коэффициента прироста численности клеток микроводорослей, %,  $K_{оп}$  – коэффициент прироста численности клеток микроводорослей в опыте, который рассчитывается как отношение конечной численности клеток к начальной,  $K_{конт.}$  – коэффициент прироста численности клеток микроводорослей в контроле. Оценку влияния загрязнения испытываемой пробы воды проводили по характеру действия (острое, подострое, хроническое), оказываемого на прирост численности клеток микроводорослей в зависимости от длительности воздействия загрязнения:

– отклонение от контроля коэффициента прироста численности клеток микроводорослей на 25% и более через 1 сутки после начала воздействия свидетельствует об остром влиянии испытываемой пробы воды на водоросли;

– отклонение от контроля коэффициента прироста численности клеток микроводорослей на 25% и более через 3-е суток после начала воздействия отражает подострое действие анализируемой пробы воды;

– отклонение от контроля коэффициента прироста численности клеток микроводорослей на 25% и более через 7 суток после начала воздействия свидетельствует о хроническом влиянии испытываемой пробы воды [7].

Оценку эффективности работы фотосистемы II ( $F_v/F_m$ ) выполняли с помощью флуориметра AquaPen (Photon System Instruments), в котором фотосинтетическая активность определяется кинетикой флуоресценции хлорофилла на основе метода амплитудно-импульсной модуляции (РАМ). Во флуориметре реализован метод измерения начального уровня переменной флуоресценции ( $F_0$ ) при помощи коротких зондирующих вспышек и ее максимального уровня ( $F_m$ ) при помощи насыщающей вспышки. По измеренным показателям рассчитывали переменную флуоресценцию в относительных единицах  $F_v = F_m - F_0$  и  $F_v/F_m$  [8].

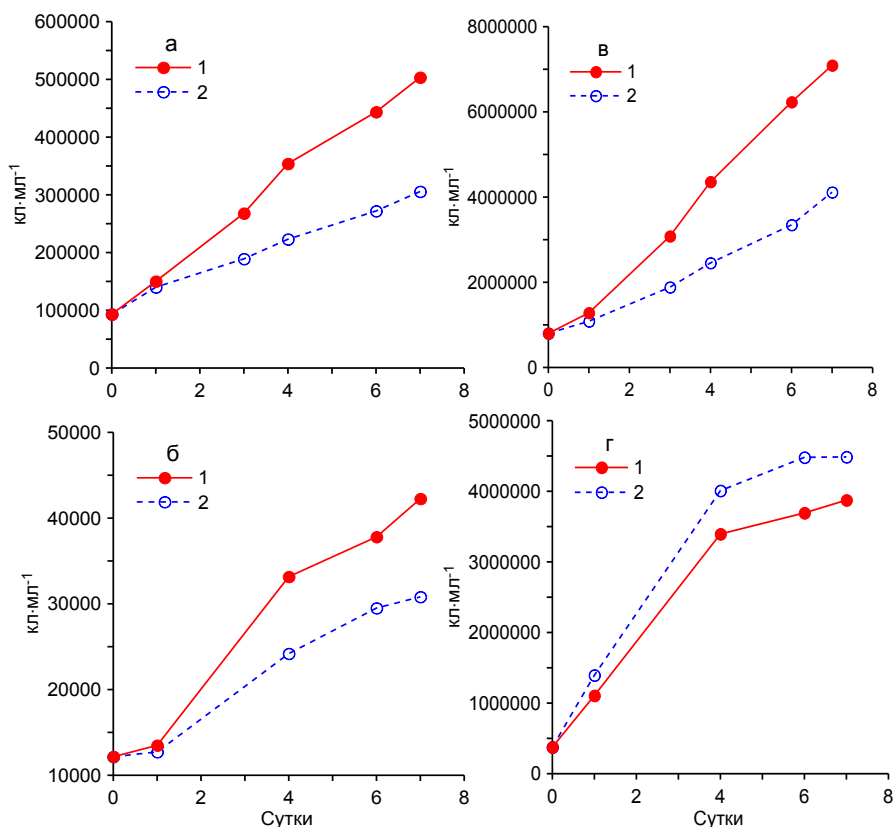
Обработка данных проводилась с использованием программы Excel 2007. Построение графиков выполнено с помощью программы Grapher 3.

**Результаты и обсуждение.** Как было отмечено нами ранее [2], основное преимущество метода биотестирования вод с помощью различных тест-объектов состоит в том, что он позволяет быстро установить сам факт загрязненности среды. Хотя этот метод не дает возможности установить спектр загрязняющих веществ, если они заранее неизвестны.

Микроводоросли различной таксономической принадлежности, являясь наиболее чувствительными организмами к антропогенному загрязнению, уже через несколько суток пребывания в воде, отобранной в Севастопольской бухте, изменяют скорость прироста численности клеток относительно контроля. Например, в мае 2021 г. в культурах динофитовых водорослей *P. cordatum*, *P. pusillum* и *G. fissum* на третьи – четвертые сутки от начала эксперимента численность клеток в опыте была существенно выше, чем в контроле (рис. 2а, б, в).

К концу эксперимента на седьмые сутки эти различия были максимальными. Полученные результаты свидетельствуют о стимулирующем влиянии воды, отобранной в Севастопольской бухте в мае, на культуры динофитовых водорослей. Отклонение коэффициента прироста численности клеток в опытных склянках по сравнению с контролем на седьмые сутки эксперимента составило у *G. fissum* 37%, у *P. cordatum* – 65% и у *P. pusillum* – 73% (табл. 1), что отражает четко выраженное хроническое воздействие загрязненной воды бухты на исследуемые виды. В это же время традиционно используемый в биотестировании среды мелкоклеточный вид диатомовых водорослей *P. tricorutum* испытывал крайне слабое воздействие загрязненных вод.

Коэффициент  $X_k$  к концу эксперимента составил лишь 4%, а знак минус отражает угнетающее действие вод на этот вид. Угнетающее влияние прибрежных вод на рост *P. tricorutum* показано ранее на примере бухты Находка (Японское море) [9], а также выявлено нами в 2020 г для бухт Севастопольского региона [2]. В последнем случае в отдельные месяцы воздействие загрязненных вод достигало хронического уровня.



**Рис. 2.** Динамика численности клеток в культурах *P. cordatum* (а), *G. fissum* (б), *P. pusillum* (в) и *E. huxleyi* (г) в опыте (1) и в контроле (2) на воде Севастопольской бухты в мае 2021 г.  
**Fig. 2.** Dynamics of the cells abundance in the cultures of *P. cordatum* (a), *G. fissum* (б), *P. pusillum* (в) and *E. huxleyi* (г) in experiment (1) and control (2) on the water of the Sevastopol Bay in May 2021

**Таблица 1.** Эффективность работы фотосистемы II ( $F_v/F_m$ ) и отклонение от контроля коэффициента прироста численности клеток микроводорослей ( $X_k$ ) на 7-е сутки в культурах, выращенных на воде Севастопольской бухты в 2021 г.

Месяц	<i>P. tricorutum</i>		<i>G. fissum</i>		<i>P. cordatum</i>		<i>P. pusillum</i>		<i>E. huxleyi</i>	
	$X_k$ , %	$\frac{F_v/F_m^1}{F_v/F_m^2}$	$X_k$ , %	$\frac{F_v/F_m^1}{F_v/F_m^2}$	$X_k$ , %	$\frac{F_v/F_m^1}{F_v/F_m^2}$	$X_k$ , %	$\frac{F_v/F_m^1}{F_v/F_m^2}$	$X_k$ , %	$\frac{F_v/F_m^1}{F_v/F_m^2}$
V	-4	-	37	-	65	-	73	-	-14	-
VI	-8	-	12	-	8	-	0	-	-29	-
VII	43	<u>0.29</u> 0.37 <b>(0.60)</b>	0	<u>0.62</u> 0.60 <b>(0.63)</b>	0	<u>0.26</u> 0.43 <b>(0.55)</b>	12	<u>0.36</u> 0.48 <b>(0.65)</b>	-14	<u>0.52</u> 0.42 <b>(0.63)</b>
VIII	33	<u>0.50</u> 0.55 <b>(0.60)</b>	0	<u>0.61</u> 0.62 <b>(0.65)</b>	28	<u>0.43</u> 0.52 <b>(0.52)</b>	9	<u>0.27</u> 0.34 <b>(0.55)</b>	-10	<u>0.48</u> 0.42 <b>(0.59)</b>

Примечание: «+» означает стимулирующее воздействие, «-» отражает эффект угнетения; эффективность работы фотосистемы II в контроле –  $F_v/F_m^1$  и в опыте –  $F_v/F_m^2$ , в скобках приводятся исходные значения  $F_v/F_m$ .

Используемая нами впервые для биотестирования мелкоклеточная кокколитофориды *E. huxleyi* оказалась более чувствительной к загрязнению по сравнению с *P. tricornutum*. Для этого вида замедление роста относительно контроля наблюдалось уже через сутки от начала исследований (рис. 2г). Отклонение коэффициента прироста численности клеток в опытных склянках по сравнению с контролем на седьмые сутки эксперимента составило 14%, а его отрицательный знак отражает токсическое воздействие на данную кокколитофору (табл. 1).

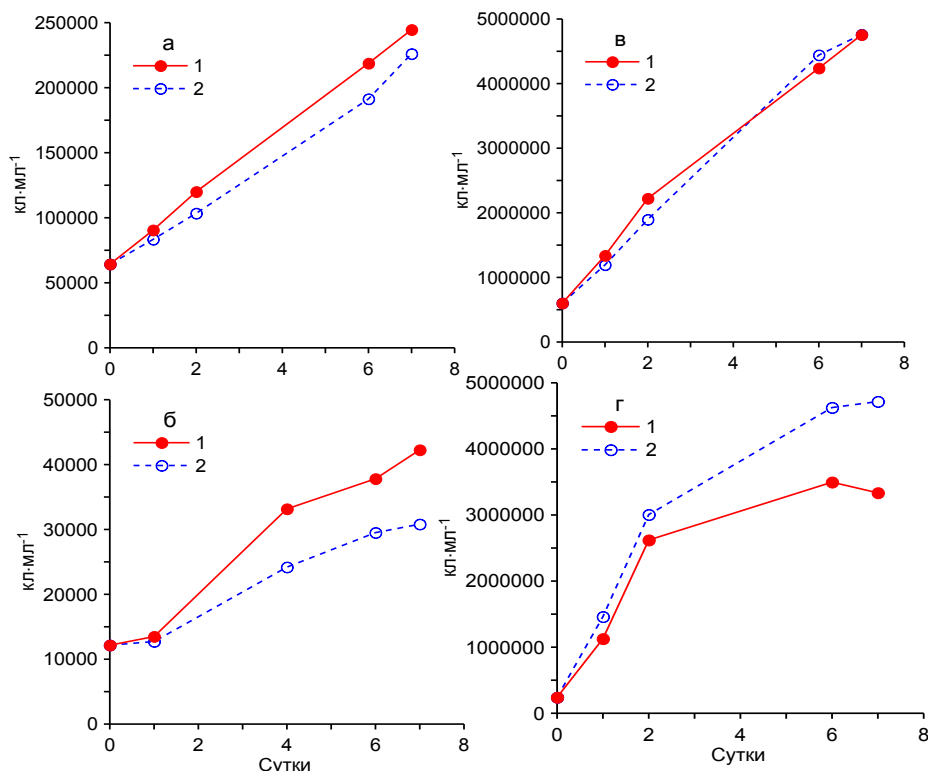
Стимулирующее влияние вод Севастопольской бухты на два вида динофитовых водорослей *P. cordatum* и *G. fissum* наблюдалось и в июне 2021 г. (рис. 3 а, б). Однако это влияние было слабым и, судя по значениям коэффициента  $X_k$ , не достигало уровня хронического воздействия. В это же время прирост клеток *P. pusillum* в опыте и в контроле был практически одинаков (рис. 3в). Тогда как наибольшее воздействие загрязненной воды на водоросли было выявлено для культуры *E. huxleyi* (рис. 3г). Значение коэффициента  $X_k$  у данного вида на седьмые сутки эксперимента составило 29% со знаком минус (табл. 1), что свидетельствует о хроническом угнетающем воздействии комплексного загрязнения вод на исследуемую культуру.

Следует отметить, что из пяти тестируемых видов водорослей только *E. huxleyi* в течение всего периода работ испытывала токсическое воздействие вод Севастопольской бухты. Вероятно, по этой причине доля этой кокколитофориды в суммарной биомассе фитопланктона в 2020 г. существенно сократилась относительно начала 2000-х годов. Причем «цветения воды», вызванные *E. huxleyi*, которые ранее регулярно регистрировались в прибрежных водах Черного моря в районе Севастополя, в настоящее время не наблюдаются [10]. Высокая степень чувствительности этой мелкоклеточной кокколитофориды обусловлена, вероятно, не только ее малым объемом (около 60 мкм<sup>3</sup>), но и высоким значением отношения площади поверхности

клетки к ее объему, что характерно для шаровидных клеток. Эта величина составляет, по нашим расчетам, 1,2 мкм<sup>-1</sup>. Тогда как у большинства видов водорослей данный показатель в несколько раз ниже. Форма клетки *E. huxleyi* и ее малый объем позволяют этому виду поглощать вещества, содержащиеся во внешней среде, с высокой скоростью и быстро достигать насыщающих концентраций как полезных, так и вредных веществ, поступающих в Севастопольскую бухту. Судя по значениям константы полунасыщения по азоту, полученным для культур микроводорослей разной таксономической принадлежности, ее величина для *E. huxleyi* составила 0,2 мкМ, тогда как у диатомовых и динофитовых водорослей этот показатель был в диапазоне от 1 до 10 мкМ [11].

Другие четыре культуры водорослей, включая *P. tricornutum*, в июле и в августе подвергались либо стимулирующему влиянию вод, либо их рост в опыте и в контроле был одинаков (табл. 1).

Важным показателем функционального состояния фитопланктона является потенциальная или максимальная эффективность работы фотосистемы II ( $F_v/F_m$ ). В морском фитопланктоне и в культурах водорослей этот показатель может изменяться в зависимости от условий от 0,1–0,2 до 0,7 [12]. У всех исследуемых нами культур при оптимальных условиях (в фазе логарифмического роста) параметр  $F_v/F_m$  был не ниже 0,5 (табл. 1). Однако в контрольных склянках по мере роста накопительных культур и завершения фазы логарифмического роста эффективность работы фотосистемы II в конце семисуточного эксперимента снижалась по сравнению с исходными значениями в результате дефицита биогенных веществ в среде. При этом в опытных склянках в большинстве экспериментов, выполненных в июле и в августе 2021 г., на седьмые сутки этот показатель, несмотря на недостаток биогенных веществ в воде, был выше контрольных значений. Это обусловлено стимулирующим влиянием поллютантов антропогенного происхождения на эффективность работы фотосистемы II у микроводорослей.



**Рис. 3.** Динамика численности клеток в культурах *P. cordatum* (а), *G. fissum* (б), *P. pusillum* (в) и *E. huxleyi* (г) в опыте (1) и в контроле (2) на воде Севастопольской бухты в июне 2021 г.  
**Fig. 3.** Dynamics of the cells abundance in the cultures of *P. cordatum* (a), *G. fissum* (б), *P. pusillum* (в) and *E. huxleyi* (г) in experiment (1) and control (2) on the water of the Sevastopol Bay in June 2021

Исключение составляет кокколитофориды *E. huxleyi*, у которой показатель  $F_v/F_m$  в загрязненной воде снижен относительно контроля. Однако степень этого снижения невелика, что подтверждает слабое воздействие поллютантов антропогенного происхождения на данный вид водорослей.

Таким образом, два функциональных параметра микроводорослей, такие как отклонение от контроля коэффициента прироста численности клеток и эффективность работы фотосистемы II, свидетельствуют о загрязнении поверхностных вод Севастопольской бухты. Судя по значениям этих параметров, в период исследований это загрязнение оказывает, чаще всего, слабое воздействие на тестируемые нами водоросли, либо иногда его влияние достигает уровня хронического воздействия. С учетом выполненных в 2020 г. исследований по оценке уровня загрязнения поверхностных вод Севастопольского региона органическими веществами [2] и полученными ре-

зультатами, представленными в данной работе, можно заключить, что воды исследуемых районов следует отнести к эпизодически загрязненным.

**Заключение.** Проведенные лабораторные эксперименты с использованием культур пяти видов микроводорослей различной таксономической принадлежности в качестве биотестов выявили в 50% случаев слабое угнетающее влияние комплексного загрязнения исследованных прибрежных вод Черного моря на их рост. Это явление отмечено для кокколитофориды *E. huxleyi* за весь период работ с мая по август. Тогда как диатомовая водоросль *P. tricornutum* испытывала угнетение в мае и июне, а в июле и в августе была подвержена хроническому стимулирующему воздействию загрязненных вод. Рост динофитовых видов водорослей в большинстве случаев стимулировался загрязняющими веществами, содержащимися в воде Севастопольской бухты. Антропогенное загрязнение акватории оказывало влияние как на рост

водорослей, так и на эффективность работы фотосистемы II. Полученные результаты свидетельствуют о необходимости использования нескольких видов микроводорослей разной таксономической принадлежности при выполнении биотестирования морских вод.

*Работа выполнена по теме государственного задания ФИЦ ИнБЮМ № 121041400077-1 «Функциональные, метаболические и токсикологические аспекты существования гидробионтов и их популяций в биотопах с различным физико-химическим режимом», а также по проекту РФФИ – Севастополь № 20-45-920002 «Стратегии адаптации фитопланктона и его потребление микрозоопланктоном под влиянием климатических изменений и антропогенной нагрузки на прибрежные экосистемы Черного моря (район Севастополя)».*

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Орехова Н.А., Вареник А.В. Современный гидрохимический режим Севастопольской бухты // Морской гидрофизический журнал. 2018. Т. 34, № 2. С. 134–146.
2. Стельмах Л.В., Ковригина Н.П. Использование морских микроводорослей для биотестирования вод Севастопольских бухт // Системы контроля окружающей среды. 2021. № 1 (43). С. 35–42.
3. Дятлов С.Е., Петросян А.Г. *Phaeodactylum tricornutum* Bohl. (Chrysophyta) как тест-объект. Диапазон соленостной резистенции // Альгология. 2001. Т. 11, № 2. С. 259–264.
4. Water quality – Algal growth inhibition test with *Skeletonema costatum* and *Phaeodactylum tricornutum*. Draft International Standard ISO/DIS 10253.2. 1994. 12 p.
5. Микаэлян А.С., Силкин В.А., Паутова Л.А. Развитие кокколитофорид в Черном море: межгодовые и многолетние изменения // Океанология. 2011. Т. 51, № 1. С. 45–53.
6. Парсонс Т.Р., Такахаши М., Харгрей В. Биологическая океанография. М.: Легкая и пищевая промышленность. 1982. 432 с.
7. Оценка токсического загрязнения вод водотоков и водоемов различной солености и зон смешения речных и морских вод методами биотестирования. Рекомендации. Р 52.24.690-2006.
8. Применение флуориметра “Мега-25” для определения количества фитопланктона и оценки состояния его фотосинтетического аппарата / С.И. Погосян, С.В. Гальчук, Ю.В. Казимирко [и др] // Вода: химия и экология. 2009. № 2. С. 34–40.
9. Маркина Ж.В., Айздайчер Н.А. Применение микроводоросли *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin (Bacillariophyta) для оценки качества вод залива Находка Японского моря (Россия) // Альгология. 2014. Т. 24, № 4. С. 551–559.
10. Stelmakh L., Kovrigina N., Gorbunova T. Phytoplankton adaptation strategies under the influence of climatic changes and anthropogenic pressure on the Black Sea coastal ecosystems on the example Sevastopol Bay // *Ecologica Montenegrina*. 2020. Vol. 37. P. 34–42.
11. Perrin L., Probert I., Langer G., Aloisi G. Growth of the coccolithophore *Emiliania huxleyi* in light- and nutrient-limited batch reactors: relevance for the BIOSOPE deep ecological niche of coccolithophores // *Biogeosciences*. 2016. Vol. 13. P. 5983–6001.
12. Цилинский В.С., Суслин В.В., Финенко З.З. Сезонная динамика эффективности работы фотосинтетического аппарата фитопланктона в прибрежных районах Черного моря // Океанология. 2018. Т. 58, № 3. С. 593–600.

**FUNCTIONAL STATE OF THE MARINE MICROALGAE CULTURES  
AS AN INDICATOR OF THE WATER POLLUTION LEVEL  
OF THE SEVASTOPOL BAY**

**L.V. Stelmakh, I.M. Mansurova**

A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS,  
RF, Sevastopol, Nachimov Av., 2

The possibility of using cultures of Black Sea planktonic microalgae of different taxonomic affiliation to assess the quality of the aquatic environment based on the assessment of their functional state is shown. The research was carried out on the diatom *Phaeodactylum tricorutum*, three dinoflagellates species *Prorocentrum cordatum*, *Prorocentrum pusillum* and *Gyrodinium fissum*, as well as the coccolithophore *Emiliania huxleyi*. It was found that the waters of the Sevastopol Bay in the period from May to August 2021 in 50% of cases had a weak inhibitory effect on the growth of the tested species. In other cases, algae growth was either stimulated or the effect of pollution on cultures was not revealed. The need for using several types of algae in carrying out complex work on water biotesting of the coastal areas of the Black Sea is highlighted.

**Keywords:** marine microalgae, biotesting of waters, complex monitoring, Sevastopol Bay, Black Sea.

**REFERENCES**

1. Orekhova N.A., Varenik A.V. Sovremennyj gidrohimicheskij rezhim Sevastopol'skoj buhty // Morskoy gidrofizicheskij zhurnal. 2018. Vol. 34, No 2, pp. 134–146.
2. Stel'makh L.V., Kovrigina N.P. Ispol'zovanie morskikh mikrovdoroslej dlya biotestirovaniya vod Sevastopol'skih buht // Sistemy kontrolya okruzhayushchej sredy. 2021. No 1(43), pp. 35–42.
3. Dyatlov S.E., Petrosyan A.G. *Phaeodactylum tricorutum* Bohl. (Chrysophyta) kak test-ob"ekt. Diapazon solenostnojrezistencii // Al'gologiya. 2001. Vol. 11, No 2, pp. 259–264.
4. Water quality – Algal growth inhibition test with *Skeletonema costatum* and *Phaeodactylumtricorutum*. Draft International Standard ISO/DIS 10253.2. 1994. 12 p.
5. Mikaelyan A.S., Silkin V.A., Pautova L.A. Razvitie kokkolitoforid v Chernom more: mezhdogovye i mnogoletnie izmeneniya // Okeanologiya. 2011. Vol. 51, No 1, pp. 45–53.
6. Parsons T.R., Takahashi M., Hargrev V. Biologicheskaya okeanografiya. M.: Legkaya i pishchevaya promyshlennost'. 1982. 432 p.
7. Ocenka toksicheskogo zagryazneniya vod vodotokov i vodoemov razlichnoj solenosti i zon smesheniya rechnyh i morskikh vod metodami biotestirovaniya. Rekomendacii. R 52.24.690-2006.
8. Primenenie fluorimetra "Mega-25" dlya opredeleniya kolichestva fitoplanktona i ocenki sostoyaniya ego fotosinteticheskogo apparata / Pogosyan S.I., Gal'chuk S.V., Kazimirko Yu.V. i dr. // Voda: himiya i ekologiya. 2009. No 2, pp. 34–40.
9. Markina Zh.V., Ajzdajcher N.A. Primenenie mikrovdorosli *Phaeodactylum tricorutum* Bohlin (Bacillariophyta) dlya ocenki kachestva vod zaliva Nahodka Yaponskogo morya (Rossiya) // Al'gologiya. 2014. Vol. 24, No 4, pp. 551–559.
10. Stelmakh L., Kovrigina N., Gorbunova T. Phytoplankton adaptation strategies under the influence of climatic changes and anthropogenic pressure on the Black Sea coastal ecosystems on the example Sevastopol Bay // EcologicaMontenegrina. 2020. Vol. 37, pp. 34–42.
11. Perrin L., Probert I., Langer G., Aloisi G. Growth of the coccolithophore *Emiliania huxleyi* in light- and nutrient-limited batch reactors: relevance for the BIOSOPE deep ecological niche of coccolithophores // Biogeosciences. 2016. Vol. 13, pp. 5983–6001.
12. Cilinskij V.S., Suslin V.V., Finenko Z.Z. Sezonnaya dinamika effektivnosti raboty fotosinteticheskogo apparata fitoplanktona v pribrezhnyh rajonah Chernogo morya // Okeanologiya. 2018. Vol. 58, No 3, pp. 593–600.