EDN: https://elibrary.ru/boojiq

УДК 582.261.1(262.5) DOI: 10.33075/2220-5861-2023-1-89-98

ВИДОВАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ЧЕРНОМОРСКОЙ МИКРОВОДОРОСЛИ *SKELETONEMA COSTATUM* В СИСТЕМАХ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА

О.С. Алатарцева, Л.В. Стельмах, И.И. Бабич

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

С помощью метода сканирующей электронной микроскопии впервые выполнена видовая идентификация черноморской диатомовой водоросли *Skeletonema costatum*. Культура исследуемого вида, выделенная три года назад, имеет низкие значения максимальной эффективности работы фотосистемы II, скорости электронного транспорта и удельной скорости роста. В культуре, полученной в 2022 г., эти параметры были в несколько раз выше. Сделано заключение о необходимости использования в экспериментальных работах и экологическом мониторинге новых штаммов культуры, выделенных из планктона перед началом исследований.

Ключевые слова: диатомовые водоросли, *Skeletonema costatum*, Черное море, эффективность работы фотосистемы II, скорость роста, электронная микроскопия.

Поступила в редакцию: 21.01.2023.

Введение. Диатомовые водоросли – один из главных компонентов практически всех морских экосистем. По многим показателям (видовое разнообразие, численность, первичная продукция, участие в круговороте веществ) они занимают лидирующие позиции среди различных групп микроводорослей. Существуют разные оценки, но даже по самым осторожным из них, эта группа водорослей продуцирует почти пятую часть мировой первичной продукции, внося существенный вклад в глобальный круговорот элементов, прежде всего, углерода, кислорода и кремния [1]. Диатомовые водоросли являются важным источником пищи для зоопланктона и простейших, в первую очередь, для гетеротрофных флагеллят [2]. В планктоне Черного моря диатомовые водоросли вместе с динофитовыми создают основную численность и биомассу суммарного нано- и микрофитопланктона [3]. Среди них следует отметить такой массовый вид, как *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve, который в течение целого ряда десятилетий вызывал «цветение воды» в прибрежных водах Черного моря в районе Крымского полуострова в конце февраля – начале марта [4]. Этот вид является пелагическим, неритическим, эвритермным и эвригалинным, а поэтому широко распространен в водах Мирового океана [5]. Культуры данного вида используются для выполнения эколого-физиологических, токсикологических и биотехнологических исследований и экологического мониторинга [6, 7].

Видовая идентификация микроводоросли *Skeletonema costatum*, выделенной из планктона прибрежных вод Черного моря у берегов Крыма, до настоящего времени осуществлялась лишь с помощью световой микроскопии [4]. Однако сейчас уже известно, что представителей этого рода трудно различать под световым микроскопом и для определения их видовой принадлежности необходимо выполнение не только световой, но и электронной микроскопии [8].

Одним из основных условий для проведения исследований на культурах является их оптимальное физиологическое состояние, предполагающее максимальные значения функциональных параметров (скорости роста, эффективности работы фотосистемы II и скорости электронного транспорта) в фазе экспоненциального роста водорослей. Вместе с тем, при длительном содержании неко-

торых культур в лабораторных условиях их функциональное состояние может существенно отличаться от оптимального.

Цель настоящего исследования – установить видовую принадлежность выделенного из планктона прибрежных вод Черного моря представителя рода *Skeletonema* с помощью методов световой и электронной микроскопии и оценить функциональное состояние и структурные параметры культур этого вида, содержащихся в коллекции в течение разного временного интервала.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования являлись два штамма альгологически чистых клоновых культур диатомовой водоросли *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve, выделенных из планктона поверхностных прибрежных вод Черного моря в районе Севастополя в марте 2019 и 2022 гг. Культуры содержали в чашках Петри при естественном рассеянном освещении и температуре 18°С на питательной среде f/2 [9].

Исследованный вид был идентифицирован с помощью методов световой и сканирующей электронной микроскопии. В первом случае использовали световой микроскоп «Olympus CX 33» (Япония), во втором – сканирующий электронный микроскоп «Hitachi SU3500» **(**Япония).

В экспериментах, выполненных в апреле 2022 г., для получения кривых накопительного роста и параметров флуоресценции 2 штамма водорослей помещали в колбы объемом 100 мл и экспонировали при интенсивности непрерывного света 17 и 85 мкЭ·м$^{-2}$·с$^{-1}$ в диапазоне ФАР в течение двух – четырех суток при температуре 20–21°С. Каждый вариант опытов выполнялся в двух повторностях. В ходе экспериментов из каждой колбы с водорослями ежесуточно отбирали аликвоты объемом 4–5 мл в трех повторностях для учета численности клеток и их линейных размеров, а также с целью определения флуоресцентных параметров F_v/F_m и F'_v/F'_m.

Для исследования светозависимого роста клеток штамма, содержащегося в коллекции в течение месяца, экспоненциально растущую культуру переносили в колбы объемом 200 мл, которые экспонировали при 8 различных интенсивностях непрерывного света в диапазоне от 8,5 до 680 мкЭ·м$^{-2}$·с$^{-1}$. Интенсивность света измеряли с помощью автоматического регистрирующего устройства «LI-1500 (LI-COR)», оснащенного квантовым датчиком «LI-190R» (США). Водоросли были акклимированы к каждой интенсивности в течение 3–4-х суток. После чего осуществляли отбор проб в трех повторностях для определения численности клеток, их размеров, содержания органического углерода и азота в клетках, а также концентрации хлорофилла *a*.

Учет численности клеток, измерения их линейных размеров осуществляли с помощью световых микроскопов «Olympus CX 33» (Япония) и «Carl Zeiss Primo Star» (Германия) при общем увеличении системы 400 крат. Линейные размеры оценивали для выборки, объемом не менее 30 клеток. Объем клеток вычисляли по методике [10]. Удельную скорость роста рассчитывали по формуле

$$\mu = \ln(N_2)/\ln(N_1),$$

где N_1 – исходная численность клеток в 1 мл, N_2 – численность клеток через сутки.

Для определения концентрации хлорофилла *a* использовали пробы объемом 10 мл в трех повторностях, профильтрованные через мембранные фильтры GF/C («Whatman» (Германия)). Пигменты экстрагировали в 90%-ном водном растворе ацетона в течение 12 ч при температуре 8ºС. Концентрацию Хл *a* определяли флуориметрическим методом с подкислением с помощью лабораторного флуориметра «Turner Trilogy» (США), калибровку которого осуществляли по чистому Хл *a*. Расчеты осуществляли по формуле, представленной в работе [11]. Относительная ошибка определений не превышала 10%.

Содержание органического углерода и азота в клетках определяли методом газо-адсорбционного хроматографического анализа на газоанализаторе «CHN-1» (Германия). Для этого суспензию водорослей осаждали на стекловолокнистые фильтры Whatman GF/C, предварительно прокаленные при 300ºС в течение суток. Сухие фильтры с навеской водорослей сжигали в CHN-анализаторе [12].

Измерения F_v/F_m, а также F'_v/F'_m при семи различных интенсивностях света в диапазоне 10–1000 мкЭ·м$^{-2}$·с$^{-1}$ осуществляли на ПАМ флуориметре «Aqua Pen-C AP 110» (Чешская Республика). Относительная погрешность определений показателей не превышала 5%. Значения rETR в относительных единицах рассчитывали на основе произведения F'_v/F'_m, соответствующей интенсивности света и коэффициента 0,5, который учитывает распределение световой энергии между двумя фотосистемами в равных долях [13].

Обработка данных выполнена в программе Excel 2007 для Windows. Были рассчитаны среднеарифметические значения исследуемых параметров и стандартное отклонение. Статистическая значимость различий между вариантами определялась по t-критерию Стьюдента. Построение графиков осуществлялось с помощью программы Grafer 7.

Результаты исследования. Результаты световой микроскопии показали, что у исследуемого вида водорослей клетки диаметром 10–12 мкм, имеющие линзовидную форму, объединены в длинные цепочки с помощью краевого кольца прямых выростов. Имеется один пластинчатый хроматофор, прилегающий к створке (рис. 1А).

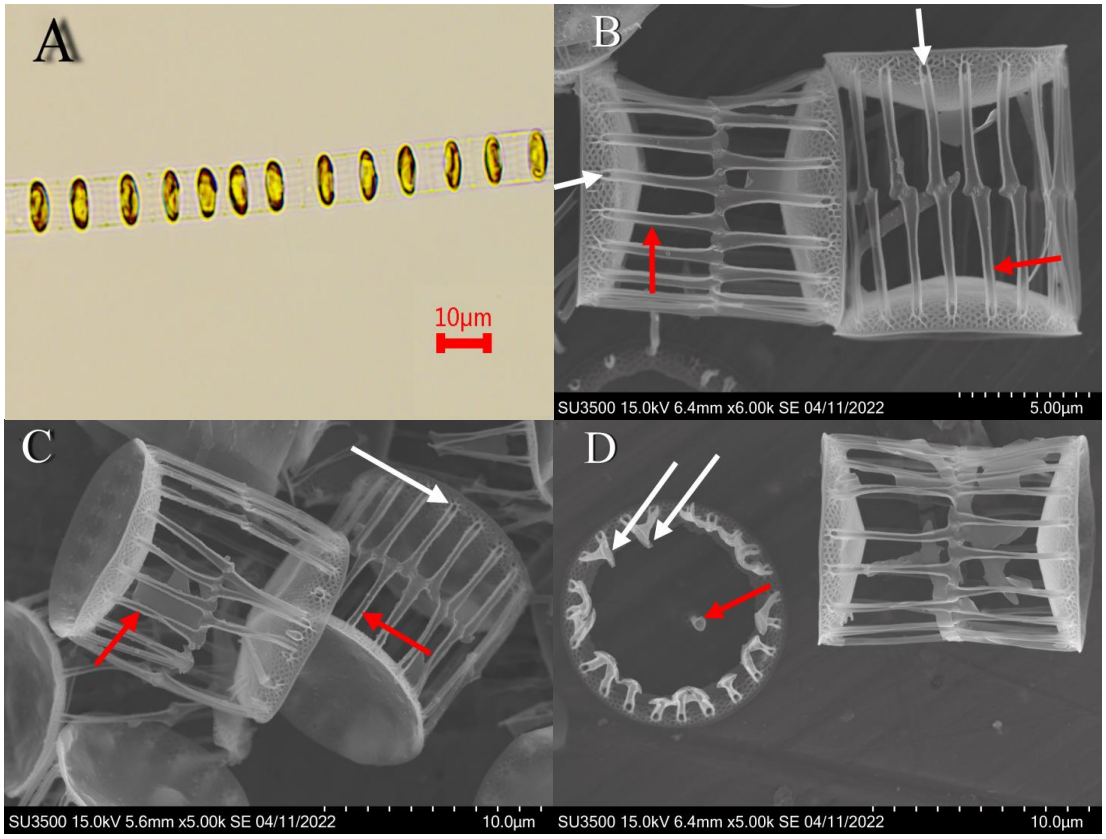

Рис. 1. *Skeletonema costatum*: А – световая микроскопия, фрагмент цепочки; В – D – СЭМ: В, С – створки двух клеток, соединенные выростами: вставочные выросты (красная стрелка), внешняя пора – белая стрелка; D – римопортула (красная стрелка), когтевидные выступы – белая стрелка

Fig. 1. *Skeletonema costatum*: A – light microscopy, fragment of chain; B – D – SEM: B, C – valves of two cells connected by fultoportla processes: intercalary fultoportula processes (red arrow), external pore (white arrow); D – rimoportula (red arrow), clawlike protrusion (white arrow)

На изображениях, полученных с помощью сканирующего электронного микроскопа, видно, что вставочные выросты представляют собой уплощенные трубки с внешней порой в основании и продольным швом, идущим от поры к концу выроста (рис. 1B, C). Соединения вставочных выростов двух соседних клеток могут быть двух видов. В первом случае один вырост соединен только с одним выростом противоположной створки, образуя прямую линию. Тогда как во втором случае боковые расширения кончика выроста присоединяются к расширениям смежных выростов противоположной створки. В обоих случаях на уровне стыков выростов видна сплошная линия (рис. 1B, C). Терминальные выросты заканчиваются когтевидным выступом. На некотором удалении от центра створки расположена римопортула с наружным отростком (рис. 1D). Сопоставление полученных нами данных с результатами по световой и электронной микроскопии, выполненными ранее для представителей рода *Skeletonema* [8], позволяет заключить, что исследуемая культура относится к виду *S. costatum*.

Исследования двух штаммов данного вида свидетельствуют о существенных различиях их структурных и функциональных характеристик. Первый штамм, содержащийся в коллекции в течение месяца, характеризовался интенсивным приростом в накопительной культуре как при низкой, так и при высокой интенсивности света (рис. 2A). Исследования двух штаммов данного вида свидетельствуют о существенных различиях их структурных и функциональных характеристик.

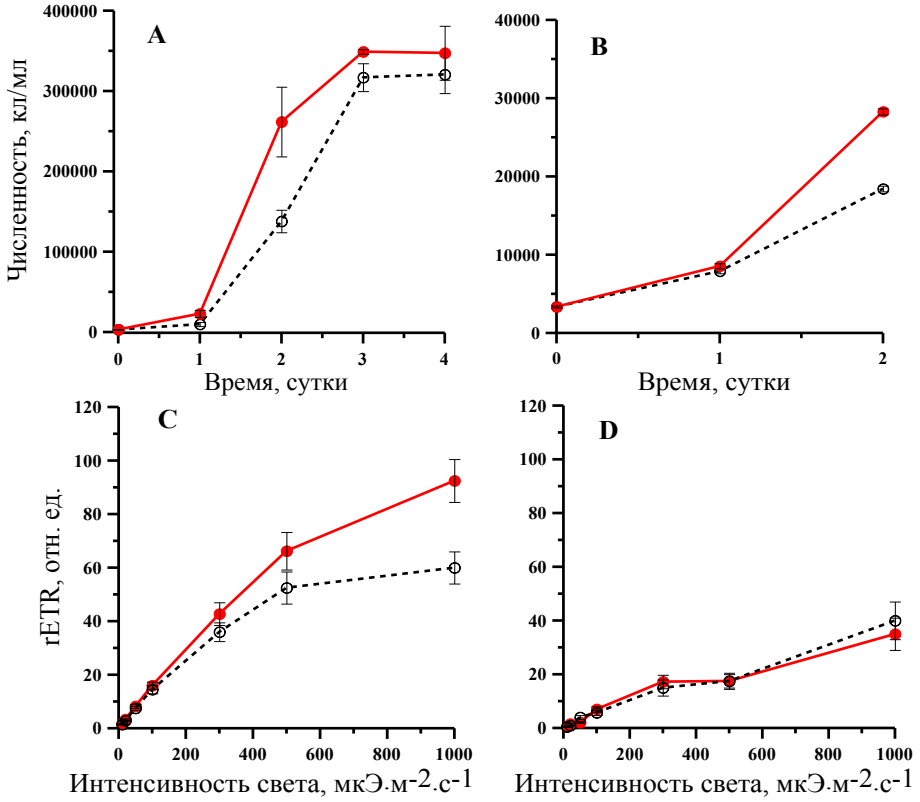

Рис. 2. Динамика численности клеток (A, B) и световая зависимость скорости электронного транспорта (C, D) в культуре *Skeletonema costatum* при низкой и высокой интенсивности света: A, C – штамм 1, B, D – штамм 2; красная линия – 85 мкЭ·м$^{-2}$·с$^{-1}$, черная линия – 17 мкЭ·м$^{-2}$·с$^{-1}$

Fig. 2. Dynamics of the cell abundance (A, B) and light dependence of the electron transport rate (C, D) in the *Skeletonema costatum* culture at the low and high light intensity: A, C – strain 1, B, D – strain 2; black line – 17 μE·m^{-2}·s^{-1}, red line – 85 μE·m^{-2}·s^{-1}

Первый штамм, содержащийся в коллекции в течение месяца, характеризовался интенсивным приростом в накопительной культуре как при низкой, так и при высокой интенсивности света (рис. 2А). В течение первых трех суток численность клеток при интенсивности света 17 мкЭ·м$^{-2}$·с$^{-1}$ возросла от 3200 до 320000 кл·мл$^{-1}$. На четвертые сутки культура вышла в стационарную фазу, в которой прирост клеток не наблюдался. При увеличении интенсивности света в 5 раз прирост водорослей был более интенсивным, и в результате на третьи сутки численность клеток достигла 350000 кл·мл$^{-1}$. После чего рост водорослей прекращался.

Прирост клеток второго штамма *S. costatum*, содержащегося в коллекции 3 года, в накопительной культуре был крайне слабым и на вторые сутки эксперимента при низкой интенсивности света численность клеток достигла значений, которые в 8 раз ниже, чем у первого штамма в это же время (рис. 2В). При высокой интенсивности света эти различия составили 9 раз.

Средние значения объема клеток вновь выделенной культуры при низких и высоких значениях интенсивности света достоверно не различались ($p > 0.05$) и были равны 358 и 342 мкм^3 соответственно (см. табл.). Для трехлетней культуры характерны более мелкие клетки, средний объем которых при низкой интенсивности света составил в среднем 94 мкм^3, тогда как при высокой – 161 мкм^3.

Значения удельной скорости роста клеток водорослей, определенные за двое суток экспоненциального роста, у первого штамма при двух интенсивностях света были равны в среднем 1,74 и 2,21 сутки$^{-1}$ соответственно. У второго штамма этот показатель при интенсивности света 17 мкЭ·м$^{-2}$·с$^{-1}$ составил 0,85 сутки$^{-1}$, а повышение освещенности в 5 раз вызвало его увеличение до 1,07 сутки$^{-1}$. Величина rETR у штамма 1, адаптированного к низкой и высокой интенсивности света, возрастала во всем световом диапазоне (10–1000 мкЭ/м$^{-2}$·с$^{-1}$) и достигла в среднем 120 и 185, соответственно при максимальной световой интенсивности (рис. 2С). Достоверные различия этого показателя наблюдались в диапазоне 300–1000 мкЭ/м$^{-2}$·с$^{-1}$ ($p \leq 0,03$). У штамма 2 значения данного параметра были существенно ниже, чем у штамма 1, и достоверно не различались между культурами, адаптированными к двум интенсивностям света ($p > 0,05$) (рис. 2 D). Средние значения F_v/F_m у двух штаммов различались в несколько раз. Для первого штамма, адаптированного к низкой и высокой интенсивности света, они составили 0,70 и 0,65, для второго – 0,19 и 0,15 (см. табл.).

Таблица. Средние значения объема клеток, удельной скорости роста и максимальной эффективности работы фотосистемы II у двух штаммов *Skeletonema costatum* в накопительной культуре при разных интенсивностях света

Параметры	Штамм 1	Штамм 2
I = 17 мкЭ·м$^{-2}$·с$^{-1}$		
V, мкм^3	358±103	94±42
μ, сутки$^{-1}$	2,66±0,24	0,85±0,04
F_v/F_m, отн.ед.	0,70±0,01	0,19±0,01
I = 85 мкЭ·м$^{-2}$·с$^{-1}$		
V, мкм^3	342±143	161±73
μ, сутки$^{-1}$	2,43±0,22	1,20±0,04
F_v/F_m, отн.ед.	0,65±0,01	0,15±0,01

В оптимальных температурных условиях и высоком содержании биогенных веществ в среде удельная скорость роста первого штамма *S. costatum* при интенсивности света 8,5 мкЭ·м$^{-2}$·с$^{-1}$ была равна 0,60 сутки$^{-1}$ и по мере усиления света до 100 мкЭ·м$^{-2}$·с$^{-1}$ возрастала, составив в максимуме 2,75 сутки$^{-1}$ (рис. 3А). В про-

цессе дальнейшего увеличения интенсивности света рост клеток культуры замедлялся и при 690 мкЭ·м$^{-2}$·с$^{-1}$ величина μ была равна лишь 1,59 сутки$^{-1}$. Подобный характер изменений выявлен и для атомарного отношения C/N, которое в диапазоне световых интенсивностей 8,5–100 мкЭ·м$^{-2}$·с$^{-1}$ возрастало от 2 до 5,1, а затем постепенно снижалось до 3,6.

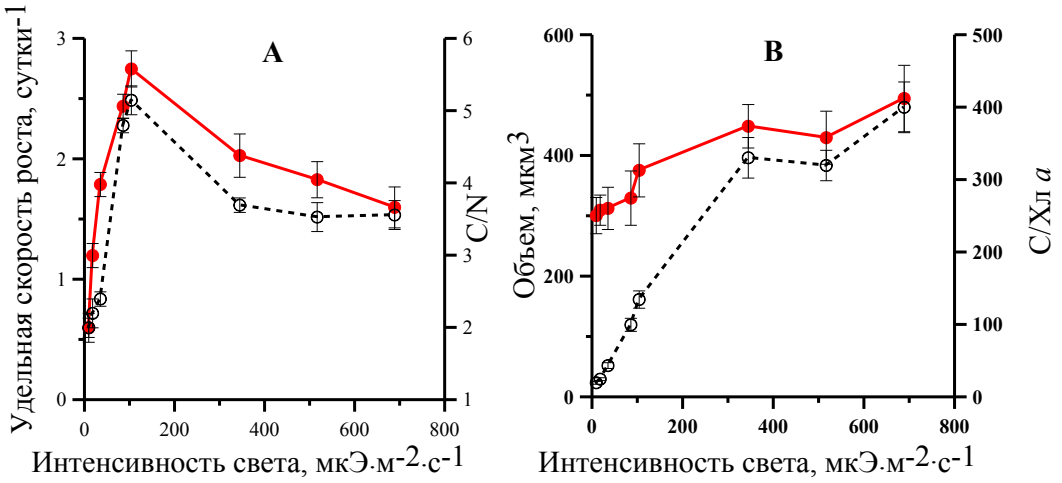

Рис. 3. Зависимость удельной скорости роста и атомарного отношения C/N (A), объема клеток и отношения C/Хл *a* (B) от интенсивности света: красная линия – скорость роста и объем клеток, черная линия – C/N и C/Хл *a*

Fig. 3. Dependence of specific growth rate and atomic C/N ratio (A), cell volume and C/Chl *a* ratio (B) on light intensity: red line – growth rate and cell volume, black line – C/N and C/Chl *a*

Во всем исследованном нами диапазоне величин интенсивности света объем клеток возрастал, составив при 8,5 мкЭ·м$^{-2}$·с$^{-1}$ в среднем 301 мкм^3, а при интенсивности света 690 мкЭ·м$^{-2}$·с$^{-1}$ был в 1,7 раза больше (рис. 3B). На участке значений световой интенсивности 8,5–344 мкЭ·м$^{-2}$·с$^{-1}$ отношение C/Хл *a* увеличивалось от 20 до 330, а при усилении света до 516 мкЭ·м$^{-2}$·с$^{-1}$ практически не изменялось (рис. 3B) и затем резко возрастало.

Обсуждение результатов исследования. Выполненные нами работы показали, что все морфологические особенности кремневого панциря клеток исследуемого вида, выявленные с помощью сканирующего электронного микроскопа, характерны только для *S. costatum* [8]. Это позволило авторам настоящего исследования впервые показать, что в прибрежных водах Черного моря в районе Севастополя в весенний период развивается с разной степенью интенсивности именно данный вид диатомовых водорослей.

Исследованная культура имеет широкое биотехнологическое применение для получения липидов, производства наноматериалов и полиненасыщенных жирных кислот [7, 14]. Экстракты культуры клеток *S. costatum* продемонстрировали антибактериальные свойства к нескольким морским патогенным бактериям [15], что открывает перспективы ее использования в медицине и фармацевтике. Данный вид водорослей применяется в качестве корма для животных [7]. Следовательно, вопрос интенсивного культивирования *S. costatum* является крайне актуальным.

Культуры данного вида используются при выполнении фундаментальных исследований и математическом моделировании первично-продукционных процессов в море в системе экологического мониторинга [16]. *S. costatum* является модельным объектом при изучении реакций микроводорослей на действие токсикантов, содержащихся в морской воде [6].

Однако при длительном содержании культуры этой диатомовой водоросли в лаборатории ее клетки мельчают, а их функциональная активность падает, что показано в настоящем исследовании. Объем клеток трехлетней культуры *S. costatum* и максимальная скорость роста в 2–3 раза меньше этих параметров, характерных для штамма, выделенного в 2022 г. Это означает, что такой штамм не пригоден для получения высоких биомасс и массового культивирования, а в работу следует брать свежевыделенную культуру. Высокая функциональная активность *S. costatum* необходима и при проведении эколого-физиологических исследований, моделировании процессов роста и первичной продукции в море. Новый штамм данного вида показал максимально возможные значения удельной скорости роста (до 2,75 сутки$^{-1}$), установленные ранее не только для этого вида, но и для других относительно мелких видов диатомовых водорослей [17]. При таких значениях скорости роста у *S. costatum* наблюдается высокая активность фотосистемы II, близкая к максимально возможной и высокое внутриклеточное содержание азота (C/N=5,1 при классическом 6,6). Что касается удельного содержания хлорофилла *a*, то этот показатель, судя по величине С/Хл *a* при световом насыщении роста, близок к 1% от органического углерода, что является необходимым условием достижения диатомовыми водорослями и в целом фитопланктона отмеченных высоких значений удельной скорости роста.

Некоторые авторы приводят более низкие значения максимальной удельной скорости роста для *S. costatum*. При температуре 20°С они были в диапазоне от 0,85 сутки$^{-1}$ [18] до 1,85 сутки$^{-1}$ [19] и могут свидетельствовать либо об отклонении экспериментальных условий от оптимальных или о длительном содержании культур этого вида в лаборатории, приводящем к снижению функциональной активности клеток.

Известно, что оптимальная температура для развития данного вида, выделенного из планктона прибрежных вод Черного моря, составляет 20–21°С. При повышении температуры до 22°С и выше рост культуры замедляется. Это означает, что высокая температура воды в море (> 21°С) является одним из основных факторов, ограничивающих развитие *S. costatum* в конце весеннего периода и в начале лета. Интенсивность непрерывного света, при которой наблюдается максимальный рост данной культуры, по нашим данным и результатам других авторов [19] была равна 100 мкЭ/м$^{-2}$·с$^{-1}$, что составляет 9 Э·м$^{-2}$·сутки$^{-1}$. Такие значения интенсивности солнечной радиации у морской поверхности в районе Крыма имеют место обычно в феврале – марте, в период интенсификации динамики вод и начала развития *S. costatum*. При дальнейшем усилении света удельная скорость роста данного вида снижается. Поэтому в результате повышения интенсивности солнечной радиации и температуры воды к началу лета доля этого вида в суммарном фитопланктоне прибрежных вод незначительна даже при высоком содержании биогенных веществ в среде [20].

Заключение. С помощью методов световой и сканирующей электронной микроскопии установлено, что мелкоклеточная диатомовая водоросль рода *Skeletonema*, регулярно вызывавшая «цветение воды» в прибрежных районах Черного моря у Севастополя в феврале или в начале марта, относится к виду *S. costatum*. Показано, что максимальное значение удельной скорости роста (2,75 сутки$^{-1}$) данного вида наблюдается в культуре, выделенной из планктона Черного моря за один месяц до начала исследований. Высокой скорости роста культуры способствовало низкое атомарное отношение C/N (5,1), отражающее высокий внутриклеточный пул азота, а также оптимальное удельное содержание хлорофилла *a*, составившее около 1% от органического углерода. Световое насыщение скорости роста исследованной культуры было достигнуто при 100 мкЭ·м$^{-2}$·с$^{-1}$, что составляет 9 Э·м$^{-2}$·сутки$^{-1}$ и соответствует суммарной суточной величине ФАР у морской поверхности, характерной для конца зимнего периода у берегов Крыма. При

дальнейшем усилении света удельная скорость роста данного вида снижается. По этой причине, а также вследствие повышения к началу лета температуры воды наблюдается сокращение доли этого вида в суммарном фитопланктоне прибрежных вод моря в районе Севастополя.

Культура *S. costatum*, содержащаяся в коллекции водорослей в течение трех лет, имела низкие величины эффективности работы фотосистемы II и относительной скорости электронного транспорта по сравнению с вновь выделенным штаммом, что послужило основной причиной существенного снижения ее удельной скорости роста даже при оптимальных условиях среды. Объем клеток в этой культуре был в 3–4 раза меньше, чем у нового штамма. Использование такой культуры в эколого-физиологических, экологических и токсикологических исследованиях, а также в биотехнологических комплексах крайне нежелательно.

Работа выполнена по теме государственного задания ФИЦ ИнБЮМ "Функциональные, метаболические и токсикологические аспекты существования гидробионтов и их популяций в биотопах с различным физико-химическим режимом" (номер гос. регистрации 121041400077-1).

Авторы выражают искреннюю благодарность сотрудникам ФИЦ ИнБЮМ Лишаеву В.Н. и Кожемяке А.Б. за помощь при выполнении данной работы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Mann D.G.* The species concept in diatoms // Phycologia. 1999. Vol. 38. Iss. 6. P. 437–495.

2. *Sherr E.B., Sherr B.F.* Heterotrophic dinoflagellates: a significant component of microzooplankton biomass and major grazers of diatoms in the sea // Marine ecology progress series. 2007. Vol. 352. P. 187–197.

3. *Mikaelyan A.S., Kubryakov A.A., Silkin V.A., Pautova L.A., Chasovnikov V.K.* Regional climate and patterns of phytoplankton annual succession in the open waters of the Black Sea // Deep Sea Research. 2018. Pt. I. Vol. 142. P. 44.

4. *Поликарпов И.Г., Сабурова М.А., Манжос Л.А., Павловская Т.В., Гаврилова Н.А.* Биологическое разнообразие микропланктона прибрежной зоны Черного моря в районе Севастополя (2001–2003 гг.) // Современное состояние биоразнообразия прибрежных вод Крыма (черноморский сектор). ЭКОСИ-Гидрофизика. 2003. 511 с.

5. *Прошкина-Лавренко А.И.* Диатомовые водоросли планктона Черного моря. Москва-Ленинград: Издательство академии наук СССР. 1955. 223 с.

6. *Chinedu O.F., Adelakun S.M., Chidi N.P.* Toxic effects of produced formation water on the growth performance of *Skeletonema costatum* // Asian Journal of Basic Science & Research. 2019. № 1 (1).

7. *Bastos C.R.V., Maia I.B., Pereira H., Navalho J., Varela J.C.S.* Optimisation of Biomass Production and Nutritional Value of Two Marine Diatoms (Bacillariophyceae), *Skeletonema costatum* and *Chaetoceros calcitrans* // Biology. 2022. № 11 (4). 594.

8. *Shevchenko O.G., Ponomareva A.A., Shulgina M.A., Orlova T.Yu.* Phytoplankton in the Coastal Waters of Russky Island, Peter the Great Bay, Sea of Japan // Botanica Pacifica. A journal of plant science and conservation. 2019. № 8 (1). P. 133–141.

9. *Guillard R.R.L., Ryther J.H.* Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt, and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran //Canad. J. Microbiol. 1962. № 8. P. 229–239.

10. *Брянцева Ю.В., Лях А.М., Сергеева А.В.* 2005. Расчет объемов и площадей поверхности одноклеточных водорослей Черного моря. Севастополь, 2005. 25 с.

11. *Knap A. H., Michaels A., Close A. T., Ducklow H., Dickson A. G.* Protocols for the Joint Global Ocean Flux Study (JGOFS) Core Measurements. UNESCO-IOC. Paris, France. 1996. 127 p.

12. *Methods* of seawater analysis / Eds: Grasshoff K., Ehrhardt M., Kremling K. Weinheim: Verlag Chemie, 1983. 419 p.

13. *Jebali A., Acién F. G., Jiménez-Ruiz N., Gómez C., Fernández-Sevilla J.M., Mhiri N., Karray F., Sayadi S., Molina-Grima E.* Evaluation of native microalgae from Tunisia using the pulse-amplitude-modulation measurement of chlorophyll fuorescence and a performance study in semi-continuous mode for biofuel production // Biotechnology for Biofuels. 2019. № 12. P. 119.

14. *Bhattacharjya R., Kiran Marella T., Tiwari A.; Saxena A., Kumar Singh P., Mishra B.* Bioprospecting of Marine Diatoms Thalassiosira, Skeletonema and Chaetoceros for Lipids and Other Value-Added Products // Bioresour. Technol. 2020. 318:124073.

15. *Naviner M., Bergé J.P., Durand P., le Bris H.* Antibacterial Activity of the Marine Diatom *Skeletonema costatum* against Aquacultural Pathogens // Aquaculture. 1999. № 174. P. 15–24.

16. *Ковалёва И.В., Финенко З.З.* Количественные закономерности изменения относительного содержания хлорофилла при совместном действии света и температуры у диатомовых водорослей // Вопросы современной альгологии. 2019. № 3 (21). С. 28–36.

17. *Стельмах Л.В., Мансурова И.М.* Унимодальная зависимость скорости роста от объема клеток в культурах черноморских видов микроводорослей // Вопросы современной альгологии. 2017. № 1 (13). URL: http://algology.ru/1101.

18. *Marañón E., Cermeño P., Lopez-Sandoval D. C.* et al. 2013. Unimodal size scaling of phytoplankton growth and the size dependence of nutrient uptake and use // Ecol. Lett. 2013. Vol. 16. P. 371–379.

19. *Shoman N., Solomonova E., Akimov A.* Application of structural, functional, fluorescent, and cytometric indicators for assessing physiological state of marine diatoms under different light growth conditions // Turkish Journal of Botany. 2021. Vol. 45, № 5. P. 511–521.

20. *Stelmakh L., Kovrigina N.* Phytoplankton Growth Rate and Microzooplankton Grazing under Conditions of Climatic Changes and Anthropogenic Pollution in the Coastal Waters of the Black Sea (Sevastopol Region)// Water. 2021. Vol. 13, Iss. 22. Article No. 3230 (13 p.).

SPECIES IDENTIFICATION AND PHYSIOLOGICAL STATE OF THE BLACK SEA MICROALGAE *SKELETONEMA COSTATUM* IN ECOLOGICAL MONITORING SYSTEMS

O.S. Alatartseva, L.V. Stelmakh, I.I. Babich

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

Using the method of scanning electron microscopy, the species identification of the Black Sea diatom *Skeletonema costatum* was performed for the first time. The culture of the studied species, isolated three years ago, has low values of the maximum efficiency of photosystem II, the electron transport rate, and the specific growth rate. In the culture obtained in 2022, these parameters were several times higher. It is concluded that before starting the research it is necessary to use new culture strains isolated from plankton in experimental work and environmental monitoring.

Keywords: diatoms, *Skeletonema costatum*, Black Sea, efficiency of the photosystem II, growth rate, electron microscopy.

REFERENCES

1. *Mann D.G.* The species concept in diatoms. *Phycologia*, 1999, Vol. 38, No. 6, pp. 437–495.

2. *Sherr E.B. and Sherr B.F.* Heterotrophic dinoflagellates: a significant component of microzooplankton biomass and major grazers of diatoms in the sea. *Marine ecology progress series*, 2007, Vol. 352, pp. 187–197.

3. *Mikaelyan A.S., Kubryakov A.A., Silkin V.A., Pautova L.A., and Chasovnikov V.K.* Regional climate and patterns of phytoplankton annual succession in the open waters of the Black Sea. *Deep Sea Research*, 2018, Vol. 142, p. 44.

4. *Polikarpov I.G., Saburova M.A., Manzhos L.A., Pavlovskaja T.V., and Gavrilova N.A.* Biologicheskoe raznoobrazie mikroplanktona pribrezhnoj zony Chernogo morja v rajone Sevastopolja (2001–

2003 gg.) (Biological diversity of microplankton in the coastal zone of the Black Sea in the area of Sevastopol (2001–2003)). Sevastopol: JeKOSI-Gidrofizika, 2003, 511 p.

5. *Proshkina-Lavrenko A.I.* Diatomovye vodorosli planktona Chernogo morja (Diatoms of the Black Sea plankton). Moskva-Leningrad: Izdatel'stvo akademii nauk SSSR, 1955, 223 p.

6. *Chinedu O.F., Adelakun S.M., and Chidi N.P.* Toxic effects of produced formation water on the growth performance of *Skeletonema costatum*. *Asian Journal of Basic Science & Research*, 2019, No. 1 (1), pp. 8–14.

7. *Bastos C.R.V., Maia I.B., Pereira H., Navalho J., and Varela J.C.S.* Optimisation of Biomass Production and Nutritional Value of Two Marine Diatoms (Bacillariophyceae), *Skeletonema costatum* and *Chaetoceros calcitrans*. *Biology*, 2022, No. 11 (4), p. 594.

8. *Shevchenko O.G., Ponomareva A.A., Shulgina M.A., and Orlova T.Yu*. Phytoplankton in the Coastal Waters of Russky Island, Peter the Great Bay, Sea of Japan. *Botanica Pacifica. A journal of plant science and conservation*, 2019, No. 8 (1), pp. 133–141.

9. *Guillard R.R.L. and Ryther J.H.* Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt, and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Canadian Journal of Microbiology*, 1962, No. 8, pp. 229–239.

10. *Brjanceva Ju.V., Ljah A.M., and Sergeeva A.V.* Raschet ob”emov i ploshhadej poverhnosti odnokletochnyh vodoroslej Chernogo morja (Calculations of volumes and surface areas of unicellular algae of the Black Sea), Sevastopol, 2005, 25 p.

11. *Knap A. H., Michaels A., Close A. T., Ducklow H., and Dickson A. G.* Protocols for the Joint Global Ocean Flux Study (JGOFS) Core Measurements. UNESCO-IOC. Paris, France, 1996, 127 p.

12. *Methods* of seawater analysis. Weinheim: Verlag Chemie, 1983, 419 p.

13. *Jebali A., Acién F. G., Jiménez-Ruiz N., Gómez C., Fernández-Sevilla J.M., Mhiri N., Karray F., Sayadi S., and Molina-Grima E.* Evaluation of native microalgae from Tunisia using the pulse-amplitude-modulation measurement of chlorophyll fuorescence and a performance study in semi-continuous mode for biofuel production. *Biotechnology for Biofuels*, 2019, No. 12, p. 119.

14. *Bhattacharjya R., Kiran Marella T., Tiwari A.; Saxena A., Kumar Singh P., and Mishra B.* Bioprospecting of Marine Diatoms Thalassiosira, Skeletonema and Chaetoceros for Lipids and Other Value-Added Products. *Bioresource Technology*, 2020, 318:124073.

15. *Naviner M., Bergé J.P., Durand P., and le Bris H.* Antibacterial Activity of the Marine Diatom *Skeletonema costatum* against Aquacultural Pathogens. *Aquaculture*, 1999, No. 174, pp. 15–24.

16. *Kovaljova I.V. and Finenko Z.Z.* Kolichestvennye zakonomernosti izmenenija otnositel'nogo soderzhanija hlorofilla pri sovmestnom dejstvii sveta i temperatury u diatomovyh vodoroslej (Quantitative patterns of changes in the relative content of chlorophyll under the combined action of light and temperature in diatoms). *Voprosy sovremennoj al'gologii*, 2019, No. 3 (21), pp. 28–36.

17. *Stel'mah L.V. and Mansurova I.M. Unimodal'naja zavisimost' skorosti rosta ot ob”ema kletok v kul'turah chernomorskih vidov mikrovodoroslej (Unimodal dependence of growth rate on cell volume in cultures of Black Sea microalgae species). Voprosy sovremennoj al'gologii,* 2017, No. 1 (13). URL: http://algology.ru/1101.

18. *Marañón E., Cermeño P., and Lopez-Sandoval D. C.* Unimodal size scaling of phytoplankton growth and the size dependence of nutrient uptake and use. *Ecology Letters*, 2013, Vol. 16, pp. 371–379.

19. *Shoman N., Solomonova E., and Akimov A.* Application of structural, functional, fluorescent, and cytometric indicators for assessing physiological state of marine diatoms under different light growth conditions. *Turkish Journal of Botany*, 2021, Vol. 45, No. 5, pp. 511–521.

20. *Stelmakh L. and Kovrigina N.* Phytoplankton Growth Rate and Microzooplankton Grazing under Conditions of Climatic Changes and Anthropogenic Pollution in the Coastal Waters of the Black Sea (Sevastopol Region). *Water*, 2021, Vol. 13, No 22, Article No. 3230 (13 p).