

УДК 577.475:582.26(582.252)574.625

# ФОРМИРОВАНИЕ ИСКУССТВЕННЫХ СООБЩЕСТВ ДЛЯ ТЕСТИРОВАНИЯ СИСТЕМ УПРАВЛЕНИЯ БАЛЛАСТНЫМИ ВОДАМИ В СООТВЕТСТВИИ С ТРЕБОВАНИЯМИ МЕЖДУНАРОДНОЙ МОРСКОЙ ОРГАНИЗАЦИИ

© 2017 Силкин В.А.<sup>a,\*</sup>, Паутова Л.А.<sup>b,\*\*</sup>, Фёдоров А.В.<sup>a,\*\*\*</sup>,  
Шитиков Е.И.<sup>c,\*\*\*\*</sup>, Дроздов В.В.<sup>d,\*\*\*\*\*</sup>, Лукашева Т.А.<sup>a</sup>, Засько Д.А.<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Южное отделение Института океанологии им. П.П. Ширшова РАН, г. Геленджик Краснодарского края, 353457;

<sup>b</sup> Институт океанологии им. П.П. Ширшова РАН, Москва, Нахимовский пр., 36, 177998;

<sup>c</sup> ООО «НПО Экология, Наука, Техника», Санкт-Петербург, 199106;

<sup>d</sup> ФГУП «Крыловский государственный научный центр», Санкт-Петербург, 196158;

e-mail: \*[vsilkin@mail.ru](mailto:vsilkin@mail.ru); \*\*[larisapautova@ocean.ru](mailto:larisapautova@ocean.ru), \*\*\*для корреспонденции [aleksey.fedorov.199001@mail.ru](mailto:aleksey.fedorov.199001@mail.ru);  
\*\*\*\*[shitikov47@gmail.com](mailto:shitikov47@gmail.com); \*\*\*\*\* [vladidrozдов@yandex.ru](mailto:vladidrozдов@yandex.ru)

Поступила в редакцию 21.11.2017

Международная морская организация (ИМО) в принятой в 2004 г. конвенции предъявляет жёсткие требования к качеству морской воды, используемой при испытании систем управления балластными водами (СУБВ). Они касаются как численности планктонных организмов двух размерных групп: 10–50 мкм и свыше 50 мкм, так и таксономического состава (не менее 5 видов трёх таксономических типов). Морской фитопланктон обладает широким разнообразием размеров и морфологических форм клеток, что затрудняет задачу применения императива размера, принятого ИМО. Предлагается формализовать размерный критерий через вычисление эквивалентного сферического диаметра. Реальное испытание СУБВ в 2017 г. поставило задачу оценки соответствия природной воды этим стандартам качества. По результатам годового мониторинга в северо-восточной части Чёрного моря показано, что видовое разнообразие фитопланктона в размерной группе 10–50 мкм всегда соответствует необходимым требованиям, однако численность его на два порядка ниже требуемой. При этом одновременное присутствие в исходной воде представителей трёх различных систематических групп наблюдается не всегда. Это ставит задачу модификации гидробиологических параметров балластной воды за счёт добавления культивируемых видов и формирования нового сообщества с заданными свойствами. В работе использовалась интенсивная культура зелёных водорослей, что позволило повысить численность клеток до уровня, соответствующего требованиям ИМО, а также добавить представителя ещё одной таксономической группы. Таксономическое разнообразие в размерной группе выше 50 мкм является достаточным и обеспечивается видовым разнообразием зоопланктона, однако вклад этих организмов в общую численность не велик (не более 3%). Необходимая численность представителей этой размерной группы была обеспечена за счёт культивирования крупных динофлагеллят.

**Ключевые слова:** инвазии, фитопланктон, зоопланктон, СУБВ, размер организма, Чёрное море.

## Введение

Одной из важных экологических проблем морей являются биоинвазии, и считается, что их скорость возрастает вследствие деятельности человека [Thomaz et al., 2015]. Наиболее чувствительны в этом плане внутренние моря с обеднённой флорой и фауной, обладающие

меньшей устойчивостью. Вселение желетельных организмов в Чёрное море в 1980–1990-х гг. привело к значительным негативным экологическим последствиям [Виноградов и др., 1992].

Одним из возможных механизмов интродукции чужеродных видов в новые экосистемы

является их перенос в балластных танках судов [Ruiz et al., 1997; Drake et al., 2007; Шиганова, 2009; Дроздов, 2014].

Даже в отсутствие освещения в танках с балластными водами клетки различных таксономических групп фитопланктона достаточно хорошо сохраняются, в том числе виды, способные вызывать токсические цветения [Morozova et al., 2011]. Для борьбы с биологическими инвазиями в 2004 г. была принята Международная конвенция о контроле судовых балластных вод и осадков и управлении ими [ИМО, 2015], которая вступила в силу 8 сентября 2017 г. Для выполнения положений конвенции Российский морской регистр выпустил соответствующее руководство [Руководство..., 2017]. Согласно этим документам, для предотвращения переноса чужеродных организмов на судах должны устанавливаться системы управления балластными водами (СУБВ). Основной задачей данных систем является управление качеством балластных вод. Перед установкой на судно спроектированные и построенные СУБВ должны быть протестированы на предмет соответствия необходимым критериям на специальных стендах компаний (фирм), имеющих освидетельствование морского регистра. Качество морской воды, поступающей в СУБВ при испытании, также строго регламентировано выше упомянутыми документами.

Предметом регуляции в СУБВ являются планктонные организмы, которые делятся на две группы, по значению их минимального размера: равного или более 50 мкм и меньшего 50 мкм и равного или более 10 мкм. Конвенция ИМО предусматривает императивный стандарт D-2 качества балластной воды, согласно которому концентрация жизнеспособных организмов первой размерной группы должна быть менее 10 организмов/м<sup>3</sup>, а второй размерной группы менее 10 клеток/мл. Эти границы носят условный характер, и не могут считаться ни экологически, ни физиологически обоснованными. Действительно, размер клетки существенно влияет на продукционные свойства, реакцию вида на изменение условий среды [Peter, Sommer, 2012] и, как следствие, способность вида к интродукции в новую эко-

систему. Недавно установлено, что максимальная удельная скорость роста фитопланктона наблюдается у клеток диаметром 6 мкм [Marañón, 2015]. Кроме того, принимая за основу линейный размер клеток, конвенция не рассматривает форму клеток. К примеру, диаметр клетки *Pseudo-nitzschia delicatissima* составляет 2.5–3.5 мкм, длина 60–80 мкм. Первый размер указывает на то, что вид не входит ни в одну размерную группу: второй – то, что клетка входит в размерную группу > 50 мкм. Также не рассматривается объём клеток, определяемый формой и размером, и который существенно изменяется в зависимости от условий среды. Давно известно, что при лимитировании азотом размер клеток может уменьшаться, ограничение роста другими элементами минерального питания (фосфор, железо), а также светом также приводит к уменьшению размера клеток, а при лимитировании роста диатомей кремнием их объём увеличивается [Harrison et al., 2015]. Поэтому один и тот же вид в зависимости от физиологического состояния может либо входить, либо не входить в размерную фракцию, регистрируемую в балластных водах. Кроме того, в конвенции не учитывается экологическая значимость вида – клетки с линейными размерами до 10 мкм могут быть токсичны при массовом развитии. Например, виды рода *Pseudo-nitzschia* с диаметром клетки около 3 мкм вызывают токсичные цветения [Hasle, 2002].

Методы концентрирования проб также формализованы [Руководство..., 2017, Приложение 1, пункты 2.7.9 и 2.7.10]. Концентрирование проб первой размерной группы должно проводиться с помощью сетчатого фильтра с размером ячеек не более 50 мкм по диагонали, второй – не более 10 мкм по диагонали. Однако, такие клетки диатомовых водорослей как *Pseudo-solenia calcar-avis* с цилиндрической формой организации и с размерами, к примеру, 8 мкм в диаметре и 600 мкм высотой могут одновременно присутствовать в трёх фракциях: свыше 50 мкм, от 10 до 50 мкм и менее 10 мкм. Отсюда следует, что для таких клеток существует проблема размерности в соответствии с требованиями конвенции.

Оценка степени инвазивности балластных вод проводится с помощью различных инструментариев – от простого микроскопического анализа проб воды до применения методов генетического анализа [Drake et al., 2007, 2014; Cullen, MacIntyre, 2015; Zaiko et al., 2015]. Однако не существует адекватных методов прогноза поведения чужеродных видов в новой экосистеме [Silkin et al., 2011]. Поэтому для данной конкретной экосистемы в большинстве случаев трудно оценить степень реальной опасности содержащихся в балластных водах организмов.

При испытании СУБВ предъявляются достаточно жёсткие требования к качеству воды [Руководство..., 2017, Приложение 1, пункт 2.6.4]. В воде должно быть определённое содержание растворённых, взвешенных веществ, а также живых организмов различных размерных групп. В частности, концентрация растворённого органического углерода (DOC) должна превышать 5 мг/л, а численность живых организмов, минимальный размер которых равен или превышает 50 мкм, должна быть не менее  $10^5$  особей в  $1 \text{ м}^3$  и включать 5 видов, принадлежащих к 3 различным типам. Организмы с размерами 10–50 мкм должны быть в концентрации  $10^4$ – $10^3$  особей на 1 мл и представлять как минимум 5 видов, принадлежащих к 3 различным типам/отделам. Нижний предел концентрации гетеротрофных микроорганизмов должен составлять не менее  $10^4$  живых бактерий на 1 мл.

Подобные концентрации веществ и численности организмов данных размерных спектров существенно превышают их значения в открытых водах морей России, поскольку характерны, прежде всего, для сильно эвтрофируемых эстуариев и бухт. В частности, численность фитопланктона с размерами 10–50 мкм, равная  $10^3$  клеток на 1 мл соответствует уровню цветения. В северо-восточной части Чёрного моря уровня цветения достигают мелкоклеточные формы, такие как кокколитофориды *Emiliania huxleyi*, которая по размерам (диаметр от 6 до 9 мкм) не может быть отнесена к числу тестовых организмов. Реальная численность видов с диаметром клеток более 10 мкм

в данном регионе на два порядка ниже по сравнению со стандартом.

Все это указывает на необходимость модификации естественных вод в соответствии с требованиями Международной морской организации (ИМО – International Maritime Organization) с помощью повышения концентрации растворённых веществ и добавления новых видов в искусственно создаваемую экосистему, имитирующую балластные воды при испытаниях СУБВ. Осуществить это возможно, используя биотехнологические методы культивирования организмов различных размерных спектров. Эти организмы могут быть как фотосинтезирующими, так и гетеротрофными. Учитывая достаточно жёсткие экологические стандарты, в данном случае речь идёт о создании нового направления в экологической биотехнологии, ориентированного, прежде всего, на испытания СУБВ, что, очевидно, потребует дополнительных исследований и весьма существенных финансовых затрат.

Учитывая, что экологические стандарты касаются численности организмов и их таксономического состава, основной целью работы была оценка соответствия природной воды северо-восточной части Чёрного моря этим стандартам *при береговых испытаниях СУБВ* и выбор методов её модификации для соответствия заданным параметрам. Решались следующие задачи:

1. Оценка размеров клеток в соответствии с требованиями ИМО.
2. Анализ природной морской воды на соответствие необходимым критериям.
3. Возможности и пути модификации гидробиологических параметров природной воды культивируемыми организмами для соответствия требованиям ИМО.

## Материал и методика

### *Отбор и анализ проб*

В июне – августе 2017 г. в Южном отделении Института океанологии РАН (г. Геленджик) на берегу Голубой бухты был построен стенд для испытания разработанного ФГУП «Крыловский государственный научный

Центр» опытного образца СУБВ. Данная система состояла из блока фильтрации на основе щелевых фильтров с размерами щелей 50 мкм и блока ультрафиолетового обеззараживания воды. Вода для испытаний закачивалась из бухты в контрольный бассейн ёмкостью 200 м<sup>3</sup>, и считалась исходной. Для соответствия необходимым требованиям ИМО в исходную воду добавлялись культивируемые зелёные водоросли и гетеротрофные бактерии, и эта вода считалась модифицированной. На каждом этапе исследований одновременно отбирались пробы на содержание зоопланктона, фитопланктона и бактериопланктона в исходной воде и модифицированной с помощью биотехнологий. Для оценки содержания зоопланктона вода из бассейнов с исходной или модифицированной морской водой с помощью насоса переливалась в стандартную ёмкость объёмом 1 м<sup>3</sup>, и затем весь объём воды пропусклся через мельничный газ с размером ячеек 50×50 мкм. Концентрированный таким способом объём воды (1 л) переносился в лабораторию для оценки видового и количественного состава организмов. Подсчёт организмов зоопланктона и идентификация видов проводились в камере Богорова под световым микроскопом с максимальным увеличением до 200. Микроскопический анализ включал в себя идентификацию видов, подсчёт количества различных видов, оценку их линейных размеров. Таксономическая идентификация до уровня вида или рода проводилась с применением справочной литературы и интернет-портала [World Register..., 2017].

Методы отбора и фиксации проб на фитопланктон были стандартными. Необходимый объём пробы переносился в лабораторию, где с помощью камеры обратной фильтрации концентрировался до объёма 100 мл. В качестве фиксатора использовался 40%-й формалин, нейтрализованный боратом натрия до конечной концентрации в пробе, равной 1%. Для дальнейшего концентрирования клеток фитопланктона применялся метод отстаивания в течение суток, затем верхний слой воды декантировался, конечный объём пробы составлял 10–16 мл.

Микроскопирование водного препарата проводилось на световом микроскопе «Эргвал» (Карл Цейс, Йена). При подсчёте числа клеток использовался метод прямого счёта в счётных камерах Ножотта объёмом 0.05 мл (для нанопланктона) и Наумана объёмом 1.0 мл (для микропланктона). В размерную группу нанопланктона включали клетки с линейными размерами 2–20 мкм. Фракция микропланктона состояла из клеток с линейными размерами, превышающими 20 мкм. Водоросли с линейными размерами менее 2 мкм не учитывались.

Таксономическую идентификацию проводили с применением известных справочников [Tomas, 1997; Throndsen et al., 2003] и интернет-порталов WoRMS и AlgaeBase [World Register..., 2017; AlgaeBase..., 2017].

Учёт общей численности бактерий осуществляли методом эпифлуоресцентной микроскопии. Для этого образцы воды отбирались в стерильные пластиковые флаконы объёмом 15 см<sup>3</sup>. Сразу же после отбора пробы фиксировались глутаровым альдегидом в конечной концентрации 2%, и в таком виде транспортировали к месту исследования в стационарную лабораторию. До транспортировки пробы хранились в холодильнике. В стационарной лаборатории аликвоту пробы объёмом от 0.5 до 1 мл (для каждого участка отбирались 1–2 дополнительных флакона для подбора оптимального объёма пробы на счёт) осаждали методом фильтрации слабым вакуумом на чёрные поликарбонатные фильтры (Osmonix, 25 мм, 0.22 мкм) и высушивали [Поглазова, Мицкевич, 1984]. Затем фильтры окрашивали акридиновым оранжевым (0.1%), высушивали на воздухе и монтировали на предметные стёкла, освещали нефлуоресцирующим маслом Olympus и просматривали на микроскопе с иммерсионным объективом 90х и 100х. Просчитывали не менее 10 полей зрения на каждом фильтре. Наблюдения и подсчёт микроорганизмов проводили с помощью эпифлуоресцентного микроскопа Olympus BX-41, оснащённого системой визуализации на базе компьютерной программы Image ScopeM.

### Методика интенсивного культивирования *Dunaliella salina*

Объект культивирования – зелёная эвригаллиновая микроводоросль *Dunaliella salina* Teod. Была получена из коллекции культур Института морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского РАН. Водоросли выращивались на модифицированной питательной среде, приготовленной на основе морской воды с добавлением морской соли до концентрации 120 г/л. В воду добавлялись следующие элементы:  $\text{NaNO}_3$  – 1.8 г/л;  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$  – 0.3 г/л;  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  – 0.037 г/л;  $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7 \times 7\text{H}_2\text{O}$  – 0.042 г/л;  $\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$  – 0.008 г/л;  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$  – 0.00625 г/л;  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \times 4\text{H}_2\text{O}$  – 0.00183 г/л;  $\text{K}_2\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_2 \times 24\text{H}_2\text{O}$  – 0.00238 г/л. Источником углерода являлась углекислота, которая подавалась в виде газовой смеси в концентрации 3% по объёму. Скорость подачи воздуха составляла 1 л на литр культуры в минуту. Температура среды находилась в интервале 23–26 °С, pH культуральной среды поддерживалась на уровне 6.5–8 единиц. Водоросли выращивали в фотобиореакторах плоско-параллельного типа объёмом 3 л с толщиной слоя суспензии 3 см. В качестве источника света использовали вертикальную световую решётку, состоящую из 10 ламп дневного света General Electric F18W/54-765. Интенсивность света на поверхности фотореактора составляла 30 Вт/м<sup>2</sup>. Рост биомассы водорослей регистрировали по изменению оптической плотности суспензии водорослей в процессе культивирования на спектрофотометре ПА-5300 при длине волны 750 нм. Для перехода от единиц оптической плотности к численности клеток использовали калибровочную кривую. Из фотореакторов для интенсивного выращивания культуру водорослей переносили в отдельные ёмкости к СУБВ и затем добавляли в бассейны с исходной средой.

### Методика культивирования природной популяции морского фитопланктона в экстенсивном режиме

Объектом культивирования служила природная популяция фитопланктона, содержащаяся

в морской воде в месте отбора (Голубая бухта). Водоросли фитопланктона выращивались на естественной морской воде с добавлением 14 мкмоль азота ( $\text{NaNO}_3$ ) и 1 мкмоль фосфора ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ ) на 1 литр. Температура среды не регулировалась и находилась в интервале 23–26 °С, pH культуральной среды была на уровне 6.5–7 единиц. В качестве источника света использовалось естественное освещение. Рост биомассы водорослей регистрировался с помощью микроскопического анализа в соответствии с разделом 2.1.

### Результаты

#### Проблема соответствия размера клеток требованиям ИМО

Согласно требованиям ИМО, основным предметом регулирования является размер организма. Однако возникает вопрос, что понимать под размером клеток в данном случае. Если клетки шаровидной формы или близкие к ней, то под линейным размером естественно понимается диаметр. В размерном спектре от 10 до 50 мкм из доминант только некоторые динофлагелляты близки к такой форме. К таким видам, которые могут интенсивно развиваться в северо-восточной части Чёрного моря относятся *Scrippsiella trochoidea* и *Prorocentrum cordatum*. Однако у массовых видов диатомей форма клеток далека от формы шара и представляет собой, чаще всего, цилиндр. Мелкоклеточная диатомея *Chaetoceros curvisetus* имеет диаметр такого цилиндра от 12 до 20 мкм и аналогичную вариабельность высоты; из клеток образует цепочки, которые по длине могут превосходить 50 мкм. Цилиндрическая диатомовая водоросль *Dactyliosolen fragilissimus* имеет диаметр от 15 до 30 мкм, длину от 30 до 60 мкм. Этот вид образует цепочки, в которых насчитывается до 110 клеток. Цилиндрическая диатомея *Cerataulina pelagica* имеет диаметр клеток 10–20 и длину 50–70 мкм, и образует цепочки клеток, которые по длине могут на порядок превышать 50 мкм. Кроме того, в море регистрируется массовое (вплоть до цветения) развитие мелкоклеточных диатомовых водорослей с диаметром менее 10 мкм, образующих цепочки, в состав

ве которых насчитывается до 50 клеток. Длина такой цепочки может значительно превосходить 50 мкм. К таким видам относятся *Pseudo-nitzschia delicatissima* и *Skeletonema costatum*. В состав фитопланктона в качестве видов, дающих высокую численность, могут входить виды с пограничными размерами клеток. Так, мелкоклеточная диатомовая водоросль *Chaetoceros affinis* имеет диаметр клеток как менее, так и более 10 мкм. Этот вид образует цепочки клеток, которые по длине могут существенно превышать 50 мкм.

Высокое разнообразие формы клеток приводит к необходимости унификации оценки размера клеток. Это возможно сделать через такой параметр как объём  $V$ , процедура измерения которого достаточно формализована [Киселёв, 1969; Hillebrand et al., 1999; Olenina et al., 2006]. Зная объём, можно вычислить такой параметр, как эквивалентный сферический диаметр  $ESD$  [Harrison et al., 2015]:

$$ESD = 2 \left( \frac{3V}{4\pi} \right)^{\frac{1}{3}} = 1.24V^{1/3}$$

Этот параметр может служить критерием линейного размера клеток и быть, соответственно, предметом регулирования.

### Фитопланктон

Чтобы оценить видовое разнообразие и максимальную численность обнаруженных видов фитопланктона, использовались данные годовой съёмки 2015 г. на шельфе северо-восточной части Чёрного моря. В таблице 1 приведены наиболее типичные виды с указанием их максимальной численности, объёма и эквивалентного сферического диаметра, из которой следует, что можно говорить о большом разнообразии видов в размерном спектре 10–50 мкм. Число видов с размерами клеток выше 50 мкм невелико и это, в основном, динофлагелляты.

**Таблица 1.** Основные виды фитопланктона на шельфе северо-восточной части Чёрного моря, максимальная численность, объём и эквивалентный сферический диаметр ESD по данным годовой съёмки 2015 г.

| Вид                                   | Тип                 | Кл/л    | Объём,<br>мкм <sup>3</sup> | ESD,<br>мкм |
|---------------------------------------|---------------------|---------|----------------------------|-------------|
| 10 мкм < ESD < 50 мкм                 |                     |         |                            |             |
| <i>Pseudo-nitzschia delicatissima</i> | Bacillariophyta     | 1037168 | 377                        | 9           |
| <i>Thalassionema nitzschioides</i>    |                     | 2746    | 600                        | 10          |
| <i>Acanthoica quattropina</i>         | Haptophyta          | 23680   | 630                        | 11          |
| <i>Thalassiosira sp.</i>              | Bacillariophyta     | 68      | 890                        | 12          |
| <i>Proboscia alata</i>                |                     | 1500    | 1000                       | 12          |
| <i>Pseudo-nitzschia seriata</i>       |                     | 370     | 1350                       | 13          |
| <i>Gymnodinium sp.</i>                | Dinophyta           | 180     | 1400                       | 14          |
| <i>Cyclotella meneghiniana</i>        | Bacillariophyta     | 25      | 1400                       | 14          |
| <i>Euglena sp.</i>                    | Euglenophyta        | 504     | 1410                       | 14          |
| <i>Cyclotella sp.</i>                 | Bacillariophyta     | 28      | 1600                       | 15          |
| <i>Gyrodinium fusiforme</i>           | Dinophyta           | 7620    | 1600                       | 15          |
| <i>Gyrodinium spirale</i>             |                     | 260     | 1600                       | 15          |
| <i>Amphidinium crassum</i>            |                     | 29      | 1800                       | 15          |
| <i>Diploneis sp.</i>                  | Bacillariophyta     | 79      | 2000                       | 16          |
| <i>Eutreptia monilifera</i>           | <u>Euglenophyta</u> | 158     | 2100                       | 16          |
| <i>Navicula sp.</i>                   | Bacillariophyta     | 53      | 2300                       | 16          |
| <i>Pseudosolenia calcar-avis</i>      |                     | 454     | 2400                       | 17          |

|                                  |                     |                 |       |       |    |
|----------------------------------|---------------------|-----------------|-------|-------|----|
| <i>Gyrodinium fusiforme</i>      | Dinophyta           | 7620            | 1600  | 15    |    |
| <i>Gyrodinium spirale</i>        |                     | 260             | 1600  | 15    |    |
| <i>Amphidinium crassum</i>       |                     | 29              | 1800  | 15    |    |
| <i>Diploneis sp.</i>             | Bacillariophyta     | 79              | 2000  | 16    |    |
| <i>Eutreptia monilifera</i>      | <u>Euglenophyta</u> | 158             | 2100  | 16    |    |
| <i>Navicula sp.</i>              | Bacillariophyta     | 53              | 2300  | 16    |    |
| <i>Pseudosolenia calcar-avis</i> |                     | 454             | 2400  | 17    |    |
| <i>Scrippsiella trochoidea</i>   | Dinophyta           | 6240            | 2400  | 17    |    |
| <i>Prorocentrum cordatum</i>     |                     | 6566            | 2700  | 17    |    |
| <i>Katodinium glaucum</i>        |                     | 29              | 3500  | 19    |    |
| <i>Protoperidinium sp.</i>       |                     | 30              | 4100  | 20    |    |
| <i>Gymnodinium sp.</i>           |                     | 4088            | 4100  | 20    |    |
| <i>Protoperidinium roseum</i>    |                     | 79              | 4100  | 20    |    |
| <i>Diplopsalis lenticula</i>     |                     | 29              | 4135  | 20    |    |
| <i>Alexandrium sp.</i>           |                     | 31              | 4200  | 20    |    |
| <i>Protoperidinium bipes</i>     |                     | 28              | 4200  | 20    |    |
| <i>Prorocentrum balticum</i>     |                     | 115             | 4200  | 20    |    |
| <i>Gyrodinium fusiforme</i>      |                     | 170             | 4700  | 21    |    |
| <i>Cochlodinium brandthii</i>    |                     | 34              | 6200  | 23    |    |
| <i>Pleurosigma sp.</i>           |                     | Bacillariophyta | 77    | 6800  | 23 |
| <i>Heterocapsa triquetra</i>     |                     | Dinophyta       | 110   | 8200  | 25 |
| <i>Prorocentrum micans</i>       |                     |                 | 2165  | 13091 | 29 |
| <i>Dinophysis sacculus</i>       |                     |                 | 28    | 14000 | 30 |
| <i>Cerataulina pelagica</i>      | Bacillariophyta     | 106             | 14100 | 30    |    |
| <i>Coccolithus pelagicus</i>     | Haptophyta          | 72960           | 14100 | 30    |    |
| <i>Dictyocha speculum</i>        | Ochrophyta          | 276             | 14100 | 30    |    |
| <i>Dictyocha octonarius</i>      |                     | 166             | 14100 | 30    |    |
| <i>Gonyaulax polygramma</i>      | Dinophyta           | 341             | 14100 | 30    |    |
| <i>Gymnodinium sp.</i>           |                     | 634             | 14100 | 30    |    |
| <i>Alexandrium sp.</i>           |                     | 29              | 14200 | 30    |    |
| <i>Prorocentrum compressum</i>   |                     | 2153            | 15300 | 31    |    |
| <i>Gyrodinium spirale</i>        |                     | 584             | 16000 | 31    |    |
| <i>Gonyaulax spinifera</i>       |                     | 50              | 16500 | 32    |    |
| <i>Prorocentrum lima</i>         |                     | 30              | 18900 | 33    |    |
| <i>Protoperidinium steinii</i>   |                     | 280             | 20800 | 34    |    |
| <i>Protoperidinium brevipes</i>  |                     | 240             | 22450 | 35    |    |
| <i>Protoperidinium granii</i>    |                     | 158             | 22450 | 35    |    |
| <i>Torodinium teredo</i>         |                     | 170             | 23600 | 36    |    |
| <i>Gonyaulax apiculata</i>       |                     | 26              | 23600 | 36    |    |
| <i>Diplopsalis lenticula</i>     |                     | 106             | 25100 | 36    |    |
| <i>Hemiaulus hauckii</i>         |                     | Bacillariophyta | 185   | 25100 | 36 |

|                                    |                 |                 |        |        |
|------------------------------------|-----------------|-----------------|--------|--------|
| <i>Lingulodinium polyedrum</i>     | Dinophyta       | 449             | 28000  | 38     |
| <i>Dinophysis hastata</i>          |                 | 26              | 30000  | 39     |
| <i>Gyrodinium pinque</i>           |                 | 189             | 31600  | 39     |
| <i>Alexandrium sp.</i>             |                 | 115             | 33500  | 40     |
| <i>Dactyliosolen fragilissimus</i> | Bacillariophyta | 79              | 34000  | 40     |
| <i>Phalacroma rotundatum</i>       | Dinophyta       | 1056            | 33500  | 40     |
| <i>Protoperidinium divergens</i>   |                 | 204             | 33500  | 40     |
| <i>Protoceratium reticulatum</i>   |                 | 475             | 35500  | 41     |
| <i>Protoperidinium pellucidum</i>  |                 | 24              | 37000  | 41     |
| <i>Dinophysis acuta</i>            |                 | 115             | 40000  | 42     |
| <i>Ceratium furca</i>              |                 | 422             | 41436  | 43     |
| <i>Gonyaulax digitalis</i>         |                 | 122             | 42000  | 43     |
| <i>Protoperidinium conicum</i>     |                 | 53              | 57100  | 48     |
| ESD > 50 мкм                       |                 |                 |        |        |
| <i>Dinophysis caudata</i>          | Dinophyta       | 286             | 65000  | 50     |
| <i>Protoperidinium brochii</i>     |                 | 68              | 65500  | 50     |
| <i>Protoperidinium sp.</i>         |                 | 30              | 65500  | 50     |
| <i>Coscinodiscus radiatus</i>      | Bacillariophyta | 34              | 88500  | 55     |
| <i>Gyrodinium lachryma</i>         | Dinophyta       | 86              | 91600  | 56     |
| <i>Ceratium fusus</i>              |                 | 528             | 101690 | 58     |
| <i>Protoperidinium breve</i>       |                 | 26              | 113100 | 60     |
| <i>Ceratium tripos</i>             |                 | 88              | 130000 | 63     |
| <i>Protoperidinium crassipes</i>   |                 | 52              | 180000 | 70     |
| <i>Pseudosolenia calcar-avis</i>   |                 | Bacillariophyta | 454    | 240000 |
| <i>Protoperidinium depressum</i>   | 30              |                 | 524000 | 100    |

Размерная группа 10–50 мкм представлена, в основном, диатомовыми водорослями и динофлагеллятами с небольшим включением крупных кокколитофорид (Haptophyta), золотистых (Ochromphyta) и евгленовых (Euglenophyta). Однако в сезонном цикле численность трёх последних таксономических групп распределена неравномерно: Ochromphyta и Haptophyta встречаются 4 и 3 месяца в году, соответственно (таблица 2). Также неравномерно распределена максимальная численность клеток размерной группы 10–50 мкм по сезонам. Практически во все месяцы численность клеток представителей этой размерной группы не соответствует необходимым требованиям, за исключением конца февраля, когда

наблюдалось цветение диатомовой водоросли *Pseudo-nitzschia delicatissima*, в остальные сезоны года она либо отсутствовала совсем, либо присутствовала в незначительном количестве. Кроме того, по шельфу распределение численности выделенных размерных групп неравномерно. Например, в июне численность клеток размерной группы 10–50 мкм на шельфе не превышала 50 кл/мл и только на одной станции зарегистрировано 243 кл/мл за счёт интенсивного развития мелких динофлагеллят.

Наибольшей вариабельностью размеров обладают цилиндрические диатомовые водоросли *Pseudosolenia calcar-avis* и *Proboscia alata*. В летний и осенний периоды обычно формируется фитопланктонное сообщество с



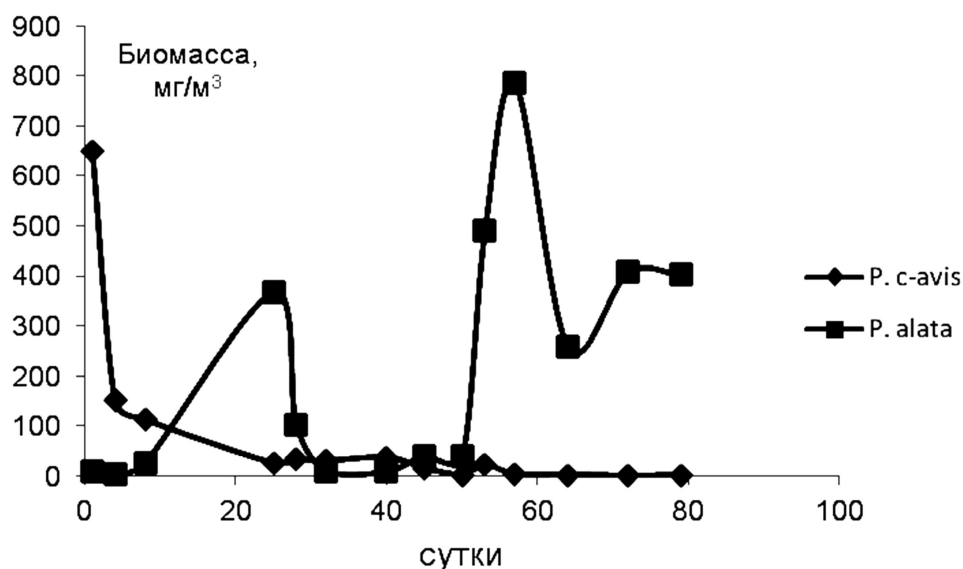
**Таблица 2.** Максимальная численность фитопланктона и число видов разных таксономических групп размерной группы 10–50 мкм в слое 0–50 м на шельфе в районе г. Геленджик в 2015 г.

| Месяц              | 1  | 2  | 3  | 4  | 5  | 6  | 7  | 8  | 9  | 10 | 11 | 12 |
|--------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| Численность, кл/мл | 13 | 10 | 24 | 14 | 6  | 24 | 10 | 11 | 9  | 8  | 6  | 2  |
| Число видов        |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Vacillariophyta    | 10 | 5  | 5  | 7  | 5  | 8  | 6  | 4  | 8  | 7  | 6  | 4  |
| Dinophyta          | 26 | 27 | 15 | 30 | 30 | 47 | 28 | 23 | 35 | 21 | 26 | 18 |
| Ochrophyta         | 2  | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 1  |
| Euglenophyta       | 0  | 0  | 0  | 1  | 1  | 2  | 0  | 2  | 2  | 1  | 0  | 0  |
| Haptophyta         | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 3  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |

одним доминирующим видом – либо крупноклеточной *Pseudosolenia calcar-avis*, либо *Proboscia alata*. Однако в 2015 г. зарегистрирована более сложная (двухфазная) динамика формирования летне-осеннего сезонного комплекса. Типичный доминант *Pseudosolenia calcar-avis* в августе резко снижал свою численность и уже к середине месяца его вытеснял другой представитель крупноклеточных диатомовых – *Proboscia alata* (рис. 1). При этом данный вид был представлен двумя чётко различающимися морфологическими формами: клетки с диаметром 12 мкм и длиной 500 мкм и клетки диаметром 4 мкм и длиной 500 мкм.

В размерной группе свыше 50 мкм основной вклад вносили динофлагелляты, при этом распределение максимального числа видов по месяцам было неравномерным (таблица 3).

Во время испытаний СУБВ в июне – августе 2017 г. в бассейне с исходной водой численность клеток размерной группы 10–50 мкм изменялась незначительно. Так, 22.06.2017 г. численность клеток фитопланктона составляла: для размерной группы 10–50 мкм – около 3 кл/мл в двух таксономических группах (диатомовых водорослей и динофлагеллят) (таблица 4). В размерной категории свыше 50 мкм численность составляла свыше 120 000 кл/м<sup>3</sup>,



**Рис. 1.** Динамика биомассы диатомовых водорослей *Pseudosolenia calcar-avis* и *Proboscia alata* в Голубой бухте в августе – октябре 2015 г. (точка 0 = 31.07.2015 г.).

**Таблица 3.** Максимальная численность фитопланктона и число видов разных таксономических групп размерной группы > 50 мкм в слое 0–50 м на шельфе в районе г. Геленджик в 2015 г.

| Месяц  | 1   | 2   | 3 | 4   | 5   | 6   | 7   | 8   | 9   | 10  | 11  | 12 |
|--|-----|-----|---|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|
| Численность, $\times 10^3$ кл/м <sup>3</sup> | 102 | 136 | 0 | 540 | 215 | 334 | 779 | 451 | 361 | 437 | 294 | 30 |
| Число видов                                  |     |     |   |     |     |     |     |     |     |     |     |    |
| Bacillariophyta                              | 0   | 0   | 0 | 0   | 0   | 1   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0  |
| Dinophyta                                    |     | 4   | 0 | 7   | 4   | 7   | 5   | 3   | 2   | 4   | 6   | 1  |

были представлены 2 таксономические группы. Таким образом, исходная вода должна быть модифицирована.

В исходной воде 13.07.2017 г. присутствовал только фитопланктон размерной группы 10–50 мкм, который был представлен двумя

**Таблица 4.** Видовая структура фитопланктона в исходной воде 22.06.2017 г.

| 10–50 мкм       |                                       | Кл/л              |
|-----------------|---------------------------------------|-------------------|
| Bacillariophyta |                                       |                   |
| 1               | <i>Cerataulina pelagica</i>           | 130               |
| 2               | <i>Chaetoceros affinis</i>            | 56                |
| 3               | <i>Chaetoceros curvisetus</i>         | 687               |
| 4               | <i>Dactyliosolen fragilissimus</i>    | 19                |
| 5               | <i>Lyctophora sp.</i>                 | 19                |
| 6               | <i>Navicula sp.</i>                   | 74                |
| 7               | <i>Pseudo-nitzschia delicatissima</i> | 279               |
| 8               | <i>Thalassionema nitzschioides</i>    | 260               |
| 9               | <i>Thalassiosira sp.</i>              | 9                 |
| Dinophyta       |                                       |                   |
| 10              | <i>Alexandrium sp.</i>                | 19                |
| 11              | <i>Dinophysis caudata</i>             | 9                 |
| 12              | <i>Diplopsalis lenticula</i>          | 19                |
| 13              | <i>Gyrodinium fusiforme</i>           | 241               |
| 14              | <i>Gyrodinium spirale</i>             | 19                |
| 15              | <i>Prorocentrum cordatum</i>          | 19                |
| 16              | <i>Prorocentrum micans</i>            | 334               |
| 17              | <i>Scrippsiella trochoidea</i>        | 37                |
| 18              | Общая численность                     | 2916              |
| > 50 мкм        |                                       | Кл/м <sup>3</sup> |
| 1               | <i>Pinularia sp.</i>                  | 42                |
| 2               | <i>Ceratium fusus</i>                 | 14                |
| 3               | <i>Ceratium tripos</i>                | 70                |
|                 | Общая численность                     | 126               |

Примечание: Динофлагеллята *Dinophysis caudata* в июне и июле 2017 г. была представлена относительно мелкими клетками, что не позволило отнести её к размерной группе > 50 мкм.

**Таблица 5.** Видовая структура фитопланктона в исходной воде 13.07.2017 г.

|    | Bacillariophyta                       | Кл/л  |
|----|---------------------------------------|-------|
| 1  | <i>Cerataulina pelagica</i>           | 320   |
| 2  | <i>Amphora sp.</i>                    | 60    |
| 3  | <i>Chaetoceros compressus</i>         | 80    |
| 4  | <i>Chaetoceros curvisetus</i>         | 6400  |
| 5  | <i>Leptocylindrus danicus</i>         | 120   |
| 6  | <i>Lycmophora sp.</i>                 | 200   |
| 7  | <i>Pleurosigma sp.</i>                | 20    |
| 8  | <i>Pseudo-nitzschia delicatissima</i> | 3000  |
| 9  | <i>Pseudosolenia calcar-avis</i>      | 40    |
| 10 | <i>Thalassionema nitzschioides</i>    | 320   |
|    | Dinophyta                             |       |
| 11 | <i>Alexandrium sp.</i>                | 20    |
| 12 | <i>Torodinium teredo</i>              | 20    |
| 13 | <i>Dinophysis caudata</i>             | 40    |
| 14 | <i>Gonyaulax polygramma</i>           | 20    |
| 15 | <i>Gyrodinium fusiforme</i>           | 1280  |
| 16 | <i>Prorocentrum balticum</i>          | 20    |
| 17 | <i>Prorocentrum micans</i>            | 140   |
| 18 | <i>Protoperidinium granii</i>         | 40    |
|    | Общая численность                     | 12140 |

таксономическими группами (таблица 5). Численность клеток фитопланктона этой размерной группы несколько превышала 10 кл/мл.

### Зоопланктон

В северо-восточной части Чёрного моря зоопланктон имеет значительно более низкую численность по сравнению с крупным фитопланктоном, суммарный вклад в размерную группу свыше 50 мкм был невысок, и не мог обеспечить необходимый уровень численности (таблица 6). Однако, таксономическое разнообразие было достаточно высоко и соответствовало необходимым требованиям. При этом основной вклад в численность вносили науплии.

### Содержание гетеротрофных бактерий

По содержанию гетеротрофных бактерий в море природная морская вода во время испы-

таний СУБВ всегда соответствовала необходимым требованиям ИМО (свыше  $10^4$  кл/мл) (таблица 7). Необходимость её модифицирования была связана с повышением концентрации растворённого органического углерода.

### Обсуждение

Морской фитопланктон отличается высоким разнообразием форм, объём его клеток изменяется в пределах 9 порядков [Harrison et al., 2015]. Для того, чтобы вычислить объём клеток, их форму приравнивают к какой-либо геометрической фигуре. Это достаточно просто сделать для диатомовых водорослей. Но у крупных динофлагеллят клетка представляет собой сложную архитектурную конструкцию, для выражения которой, требуется совокупность различных геометрических фигур. К примеру, клетка динофлагелляты *Ceratium tripos* представляет собой сочетание различ-

**Таблица 6.** Численность различных видов зоопланктона в исходной воде 22.06.2017 г.

| Зоопланктон                    | Экз./м <sup>3</sup> |
|--------------------------------|---------------------|
| Голопланктон                   |                     |
| <i>Pleopis polyphemoides</i>   | 355                 |
| <i>Oithona davisae</i>         | 42                  |
| <i>Acartia</i> sp.             | 12                  |
| <i>Paracalanus parvus</i>      | 12                  |
| Науплиальные стадии Copepoda   | 950                 |
| Копеподитные стадии Copepoda   | 39                  |
| Меропланктон                   |                     |
| Cirripedia                     | 640                 |
| Bivalvia                       | 205                 |
| Gastropoda                     | 12                  |
| Polychaeta                     | 2                   |
| Общая численность зоопланктона | 2624                |

**Таблица 7.** Содержание гетеротрофных бактерий в исходной воде (контрольный бассейн) и модифицированной во время испытаний СУБВ в летний период 2017 г.

| № | Дата       | Варианты         | 10 <sup>3</sup> кл/мл |
|---|------------|------------------|-----------------------|
| 1 | 21.06.2017 | контроль         | 1400                  |
|   | 23.06.2017 | модифицированная | 4418                  |
| 2 | 01.07.2017 | контроль         | 2627                  |
|   | 01.07.2017 | модифицированная | 3000                  |
| 3 | 13.07.2017 | исходная вода    | 3042                  |
|   | 13.07.2017 | модифицированная | 4036                  |

ных геометрических фигур различных размеров и, соответственно, объёмов. Вычисление линейного размера через объём клетки является единственно возможным решением. Поэтому эквивалентный сферический диаметр, в принципе, может быть критерием регулирования размера микроорганизмов.

Проведённые на шельфе северо-восточной части Чёрного моря исследования показали, что все виды фитопланктона в основном относились к размерной группе до 50 мкм (таблица 1). Существует только несколько видов планктонных водорослей размером более 50 мкм, это представители диатомей (род *Coscinodiscus*), динофлагеллят (рода *Ceratium*, *Protoperdinium*, *Noctiluca*). Такая крупноклеточная диатомовая водоросль как *Pseudosolenia*

*calcar-avis* в зависимости от размера клетки может быть как в размерной группе 10–50 мкм, так и в группе > 50 мкм. Однако медиана её клеточного размера ниже 50 мкм, это указывает на то, что клетки с размерами выше 50 мкм встречаются редко.

Использование природной воды как тестовой для испытаний СУБВ ставит задачу исследования сезонной динамики фитопланктона в размерных фракциях 10–50 мкм и представителей фито- и зоопланктона с размерами свыше 50 мкм. Численность как фито-, так и зоопланктона определяют доминанты, которые имеют максимальные количественные показатели во время их массового развития. Смена доминант характеризует сукцессию и для каждого водоёма и даже какой-то его части она

имеет собственные черты. Для северо-восточной части Чёрного моря на основе полевых круглогодичных наблюдений выявлена основная схема сукцессии в фитопланктонном сообществе [Silkin et al., 2013]: мелкоклеточные диатомовые водоросли (весна) → кокколитофорида *Emiliania huxleyi* (конец весны, начало лета) → крупноклеточные диатомовые водоросли (лето, осень).

Весной периодически регистрируется массовое развитие мелкоклеточных диатомовых водорослей, главным образом *Pseudo-nitzschia delicatissima*. Так в конце февраля и начале марта 2015 г. наблюдали цветение этого вида. Однако этот вид является пограничным для размерного стандарта, и в зависимости от диаметра клетки он может либо соответствовать этому стандарту, либо нет. Другой весенний вид – *Chaetoceros curvisetus* иногда вносит существенный вклад в общую численность [Паутова и др., 2007]. Практически ежегодно наблюдается цветение кокколитофориды *Emiliania huxleyi*, однако диаметр клетки (6–9 мкм) не позволяет отнести её к необходимому стандарту. И только во время летнего цветения диатомовых водорослей (*Proboscia alata*, *Pseudosolenia calcar-avis*) с размерами клеток, соответствующими стандарту 10–50 мкм, эти виды вносят существенный вклад в данную размерную группу. Динофлагелляты практически никогда не демонстрируют интенсивное развитие, за исключением *Scrippsiella trochoidea*, которая в весенний период иногда достигает уровня цветения [Паутова и др., 2007]. Однако, высокая численность фитопланктона в размерной группе 10–50 мкм скорее исключение, чем правило. Кроме того, природная популяция фитопланктона в этом диапазоне размеров представлена, в основном, двумя таксономическими группами. Это указывает на необходимость модификации гидробиологических параметров природной воды путём добавления культивируемых видов. Следует подчеркнуть, что такая модификация при береговых испытаниях СУБВ на основе искусственного культивирования ряда видов допускается в соответствии с Резолюцией Комитета по защите морской среды ИМО № 279

(70) принятой в октябре 2016 г. [Руководство..., 2017]. Другими словами ставится задача формирования искусственного сообщества с заданными структурными показателями. Естественно, что это должны быть легко культивируемые виды, и они не должны принадлежать ни к диатомовым водорослям, ни к кокколитофоридам. Этим требованиям отвечают зелёные водоросли с размером клеток свыше 10 мкм, технологии выращивания которых хорошо разработаны [Силкин, Хайлов, 1988]. В наших исследованиях исходную воду модифицировали добавлением культуры одноклеточной зелёной водоросли *Dunaliella salina*. Размеры её клеток превышают 10 мкм, что позволяет отнести их к размерной группе 10–50 мкм. Кроме того, эта водоросль относится к не представленному ранее семейству Chlorophyceae, что, несомненно, делает её полностью соответствующей необходимым требованиям. Этим требованиям также отвечает другой вид зелёных водорослей – *Tetraselmis viridis*. Данные водоросли обладают высокими продукционными свойствами и не подвержены контаминации. В наших исследованиях эвригалинная водоросль *Dunaliella salina* в накопительной культуре достигала плотности  $1.8 \times 10^6$  кл/мл за 4 суток выращивания в плоскопараллельном фотореакторе толщиной 30 мм. Чтобы повысить численность клеток размерной фракции 10–50 мкм необходимо было добавить в бассейн ёмкостью 200 м<sup>3</sup> менее 100 л суспензии этой водоросли. Получить это в интенсивной культуре не является сложной задачей.

Для численности зоопланктона характерна межгодовая вариабельность. Кроме того, она существенно изменяется по сезонам, и максимальные показатели численности зоопланктона всегда регистрируются в летний период [Виноградов и др., 1992; Lebedeva et al., 2015]. Исключение составляет гетеротрофная динофлагеллята *Noctiluca scintillans*, которая периодически играет существенную роль в экосистеме в более ранний период [Mikaelyan et al., 2014]. Так, с апреля до начала лета 2015 г. *N. scintillans* активно развивалась в Голубой бухте, её максимальная численность составила

4472 экз/м<sup>3</sup>, превысив таковую в 2014 г. в 15.7 раза. К концу июня происходила элиминация ноктилюки. В летний период 2015 г. по численности доминировала *Penilia avirostris* (Cladocera) – 1083 экз/м<sup>3</sup>, что было в 5 раз больше, чем в 2014 г. В 2017 г. во время проведения испытаний СУБВ в летний период общая численность зоопланктона никогда не превышала 3000 экз/м<sup>3</sup>. В проводимом нами исследовании основной функцией зоопланктона было повышение таксономического и морфологического разнообразия.

В связи с низкими продукционными свойствами зоопланктона его культивирование представляется весьма проблематичным и недешёвым способом повышать численность размерной группы свыше 50 мкм. В данном случае единственно перспективным остаётся экстенсивное культивирование природной популяции с целью повышения численности крупных динофлагеллят. Поэтому учитывая, что крупные динофлагелляты являются миксо- или гетеротрофами в природное сообщество добавляли гетеротрофные бактерии и культуру мелкой зелёной водоросли *Dunaliella salina*. Гетеротрофные бактерии рода *Sacharotomycetes* культивировали в интенсивном режиме, а затем добавляли с целью повышения концентрации растворённого органического углерода до необходимого стандарта (таблица 6). Через 6 суток экстенсивного культивирования природной популяции фитопланктона в воде были зарегистрированы представители рода *Ceratium* (*C. fusus* и *C. tripos*) с общей численностью  $115 \times 10^3$  кл/м<sup>3</sup>.

Таким образом, по результатам исследований по испытанию СУБВ на черноморской воде можно сделать следующее заключение:

- природные популяции фитопланктона обладают широким разнообразием размеров и морфологических форм, что затрудняет задачу применения императива размера, принятого ИМО. Унификация размерного критерия возможна через вычисление эквивалентного сферического диаметра.

- видовое разнообразие фитопланктона в размерной группе 10–50 мкм всегда соответствует необходимым требованиям, однако чис-

ленность его на два порядка ниже требуемой. Кроме того, одновременное присутствие в исходной воде представителей трёх различных систематических групп наблюдается не всегда. Это приводит к необходимости модификации гидробиологических параметров балластной воды за счёт добавления культивируемых видов и формирования новых сообществ с заданными свойствами, где основными критериями выступают численные показатели размерных групп и таксономическое разнообразие. Эксперименты показали, что использование интенсивной культуры зелёных водорослей является перспективным для получения воды, соответствующей требованиям ИМО.

- таксономическое разнообразие в размерной группе выше 50 мкм является достаточным и обеспечивается видовым разнообразием зоопланктона, однако вклад этих организмов в общую численность не велик (не более 3%). Необходимая численность представителей этой размерной группы может быть обеспечена за счёт крупных динофлагеллят, полученных при экстенсивном культивировании природных популяций.

Данная работа частично осуществлена в рамках выполнения госзаданий по теме № 0149-2018-0013 и частично темы № 0149-2018-0027 президиума РАН.

### Литература

- Виноградов М.Е., Сапожников В.В., Шушкина Э.А. Экосистема Чёрного моря. М., Наука. 1992. 112 с.
- Дроздов В.В. Трансграничное загрязнение морских экосистем балластными водами крупнотоннажных судов и технологии его предотвращения // Экология и промышленность России. 2014. № 9. С. 38–43.
- Киселёв И.А. Планктон морей и континентальных водоёмов. Л.: Наука, 1969. Том 1. 657 с.
- Паутова Л.А., Микаэлян А.С., Силкин В.А. Структура планктонных фитоценов шельфовых вод северо-восточной части Чёрного моря в период массового развития *Emiliania huxleyi* в 2002–2005 гг. // Океанология. 2007. Т. 47. № 3. С. 408–417.
- Поглазова М.Н., Мицкевич И.Н. Применение флуорескамина для определения количества микроорганизмов в морской воде эпифлуоресцентным методом // Микробиология. 1984. №5. С. 850–858.
- Руководство по применению требований Международной конвенции о контроле судовых балластных вод

- и осадков и управлению ими 2004 года. Российский морской регистр судоходства. СПб., 2017. 61 с.
- Силкин В.А., Хайлов К.М. Биоэкологические механизмы управления в аквакультуре. Л.: Наука, 1988. 230 с.
- Шиганова Т.А. Чужеродные виды в экосистемах южных внутренних морей Евразии: Автореф. дис. ... д-ра наук. 2009. 65 с.
- AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. // (<http://www.algaebase.org>). Проверено 14.12.2017.
- Cullen J.J., MacIntyre H.L.. On the use of the serial dilution culture method to enumerate viable phytoplankton in natural communities of plankton subjected to ballast water treatment // *J. Appl Phycol.* 2015. Vol. 28. I. 1. P. 279–298. DOI 10.1007/s10811-015-0601-
- Drake L.A., Doblin M.A., Dobbs F.C. Potential microbial bioinvasions via ships' ballast water, sediment, and biofilm // *Mar Poll Bull.* 2007. Vol. 55. P. 333–341. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2006.11.007>
- Drake L.A., Tamburri M.N., First M.R., Smith G.J., Johengen T.H. How many organisms are in ballast water discharge? A framework for validating and selecting compliance monitoring tools // *Mar Poll Bull.* 2014. Vol. 86. P. 122–128
- Harrison P.J., Zingone A., Mickelson M.J., Lehtinen S., Ramaiah N., Kraberg A., Sun J., McQuatters-Gollop A., Jakobsen H.H. Cell volumes of marine phytoplankton from globally distributed coastal data sets // *Est Coast Shelf Sc.* 2015. Vol. 162. P. 130–142. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecss.2015.05.026>
- Hasle G.R. Are most of the domoic acid-producing species of the diatom genus *Pseudonitzschia* cosmopolites? // *Harmful Algae.* 2002. Vol. 1. P. 137–146.
- Hillebrand H., Durselen C., Kirschtel D., Pollinger U. and Zohary T. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae // *J. Phycol.* 1999. Vol. 35. P. 403–424.
- IMO. 2015 // (<http://www.imo.org/en/OurWorkEnvironment/BallastWaterManagement/Pages/Default.aspx>). Documents/ Table of BA FATA updated in Oct 2014.pdf. Accessed 14 Jan 2015 International Maritime Organization Marine Environment Protection Committee (2008) Annex 4 Resolution MEPC. 174 (58). Guidelines for Approval of Ballast Water Management Systems (G8). London, UK. Проверено 14.12.2017.
- Lebedeva L.P., Lukashova T.A., Anokhina L.L., Chasovnikov V.K. Interannual Variability in the Zooplankton Community in Golubaya Bay (Northeastern Part of the Black Sea) in 2002–2012 // *Oceanology.* 2015. Vol. 55. No. 3. P. 355–363.
- Maracyn E. Cell size as a key determinant of phytoplankton metabolism and community structure // *Annu Rev Mar Sci.* 2015. Vol. 7. P. 241–264.
- Mikaelyan A.S., Malej A., Shiganova T.A., Turk V., Sivkovitch A.E., Musaeva E.I., Kogon'lyek T., Lukashova T.A. Populations of the red tide forming dinoflagellate *Noctiluca scintillans* (Macartney): A comparison between the Black Sea and the northern Adriatic Sea // *Harmful Algae.* 2014. Vol. 33. P. 29–40
- Morozova T.V., Selina M.S., Stonik I.V., Shevchenko O.G., Zvyagintsev A.Yu. Phytoplankton in Ships' Ballast Waters in the Port of Vladivostok // *Russian Journal of Biological Invasions.* 2011. Vol. 2. No. 1. P. 29–34.
- Olenina I., Hajdu S., Edle L., Andersson A., Wasmund N., Busch S., Gubel J., Gromisz S., Huseby S., Huttunen M., Jaanus A., Kokkonen P., Ledaine I., Niemkiewicz E. Biovolumes and size-classes of phytoplankton in the Baltic Sea // *HELCOM Balt. Sea Environ. Proc.* 2006. No. 106. 144 pp.
- Peter K.H., Sommer U. Phytoplankton Cell Size: Intra- and Interspecific Effects of Warming and Grazing // *PLoS ONE.* 2012. Vol. 7(11): e49632. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0049632>
- Ruiz G.M., Carlton J.T., Grosholz E.D., Hines A.H. Global invasions of marine and estuarine habitats by non-indigenous species: mechanisms, extent, and consequences // *Am Zool.* 1997. Vol. 37. P. 621–632. <http://dx.doi.org/10.1093/icb/37.6.621>
- Silkin V.A., Abakumov A.I., Pautova L.A., Mikaelyan A.S., Chasovnikov V.K., Lukashova T.A. Co-existence of non-native and the Black sea phytoplankton species. Invasion hypotheses discussion // *Russian Journal of Biological Invasions.* 2011. Vol. 2. No. 4. P. 256–264.
- Silkin V.A., Pautova L.A., Lifanchuk A.V. Physiological Regulatory Mechanisms of the Marine Phytoplankton Community Structure // *Russian Journal of Plant Physiology.* 2013. Vol. 60. No. 4. P. 541–548.
- Thomaz S.M., Kovalenko K.E., Havel J.E., Kats L.B. Aquatic invasive species: general trends in the literature and introduction to the special issue // *Hydrobiologia.* 2015. Vol. 746. P. 1–12. <http://dx.doi.org/10.1007/s10750-014-2150-8>
- Thronsdalen J., Hasle G.R., Tangen K. Norsk kystplanktonflora. Almatier forlag as. 2003. 341 p.
- Tomas C.R. (ed.) *Identifying Marine Phytoplankton.* San Diego, US: Academic Press, 1997. ISBN 0-12-693018-X. XV. 858 p.
- World Register of Marine Species // (<http://www.marinespecies.org>). Проверено 14.12.2017.
- Zaiko A., Zaiko A., Martinez J.L., Ardura A., Clusa L., Borrell Y.J., Samuiloviene A., Roca A., Garcia-Vazquez E. Detecting nuisance species using NGST: Methodology short comings and possible application in ballast water monitoring // *Mar. Environ. Res.* 2015. Vol. 112. Part B. P. 64–72. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marenvres.2015.07.002>

# FORMATION OF ARTIFICIAL COMMUNITIES FOR BALLAST WATER MANAGEMENT SYSTEMS TESTING IN ACCORDANCE WITH REQUIREMENTS OF INTERNATIONAL MARITIME ORGANIZATION

© 2017 Silkin V.A.<sup>a,\*</sup>, Pautova L.A.<sup>b,\*\*</sup>, Fedorov A.V.<sup>a,\*\*\*</sup>,  
Shitikov EA<sup>c,\*\*\*\*</sup>, Drozdov V.V.<sup>d,\*\*\*\*\*</sup>, Lukasheva T.A.<sup>a</sup>, Zasko D.A.<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Shirshov Institute of Oceanology of the RAS, Southern branch;

<sup>b</sup> Shirshov Institute of Oceanology of the RAS, Moscow, 177998;

<sup>c</sup> Ltd «NPO Ecology, Science, Technology», St. Petersburg, 199106;

<sup>d</sup> Krylov State Research Center, St. Petersburg, 196158;

e-mail: \* [vsilkin@mail.ru](mailto:vsilkin@mail.ru); \*\* [larisapautova@ocean.ru](mailto:larisapautova@ocean.ru);

\*\*\* for correspondence [aleksey\\_fedorov\\_199001@mail.ru](mailto:aleksey_fedorov_199001@mail.ru); \*\*\*\* [shitikov47@gmail.com](mailto:shitikov47@gmail.com);

\*\*\*\*\* [vladidrozdov@yandex.ru](mailto:vladidrozdov@yandex.ru)

The International Maritime Organization (IMO), in its 2004 convention, imposes stringent requirements on the quality of seawater used in the testing of Ballast Water Management System (BWMS). They concern the number of plankton organisms of two size groups: 10–50 mm and more than 50 mm, and also taxonomic composition (at least 5 species of three taxonomic types). Marine phytoplankton has a wide variety of sizes and morphological forms of cells, which makes it difficult to apply the size imperative adopted by IMO. It is proposed to formalize the dimensional criterion by calculating the equivalent spherical diameter. The real test of the BWMS in 2017 set the task of assessing the compliance of natural water with these quality standards. According to the results of annual monitoring in the northeastern part of the Black Sea, it is shown that the species diversity of phytoplankton in the size group of 10–50 mm always meets the necessary requirements, but its number is two orders of magnitude lower than required. In this case, simultaneous presence of representatives of three different systematic groups in the initial water is not always observed. This poses the task of modifying the water by adding cultivated species. The work used an intensive culture of green algae, which allowed to increase the number of cells to the level corresponding to IMO requirements, and also to add a representative of another taxonomic group. Taxonomic diversity in the size group above 50 microns is sufficient and is provided by species diversity of zooplankton, however the contribution of these organisms to the total population is not large (no more than 3%). The necessary number of representatives of this size group was ensured by the cultivation of large dinoflagellates.

**Key words:** invasions, phytoplankton, zooplankton, BWMS, size, Black Sea.