

УДК 574.24:57.084.1

UDC 574.24:57.084.1

**ВЫРАЩИВАНИЕ ДОМИНИРУЮЩИХ
ВИДОВ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ В СЕВЕРО-
ВОСТОЧНОЙ ЧАСТИ ЧЁРНОГО МОРЯ****GROWING DOMINANT SPECIES OF
MICROALGAE IN NORTH EASTERN BLACK
SEA**

Лифанчук Анна Викторовна
Южное отделение Института океанологии имени
П.П. Ширшова РАН, Геленджик, Россия
lifanchuk.anna@mail.ru

Lifanchuk Anna Viktorovna
Southern Branch of P.P. Shirshov Institute of
Oceanology, Gelendjik, Russia
lifanchuk.anna@mail.ru

Приводятся данные по изучению влияния добавок элементов минерального питания на структуру фитопланктонного сообщества в северо-восточной части Чёрного моря в различные сезоны. Экспериментальные исследования показали, что увеличение биомассы микроводорослей при культивировании в накопительном режиме происходит при совместной добавке азота и фосфора. В весеннем сезоне можно получить биомассы *Emiliana huxleyi*, *Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima*, *Chaetoceros curvisetus* и *Skeletonema costatum*, в летнем – *E. huxleyi*, *C. curvisetus*, *P.pseudodelicatissima*, *S.costatum*, *Thalassionema nitzschioides*, *Leptocylindrus danicus*, *Dactyliosolen fragilissimus*, *Proboscia alata*, *Pseudosolenia calcar-avis*, в осеннем – *C. curvisetus*, *S.costatum*, *Th. nitzschioides*, *L. danicus*, *D. fragilissimus*

In this article we present data on the effect of addition of mineral nutrition elements in the structure of the phytoplankton community in the north-eastern part of the Black Sea in the different seasons. Experimental studies have shown that the increase in biomass of microalgae occurs at the simultaneous addition of nitrogen and phosphorus in the accumulative cultures. In the spring can get biomass *Emiliana huxleyi*, *P.pseudodelicatissima*, *Chaetoceros curvisetus* and *Skeletonema costatum*, in the summer – *E. huxleyi*, *C. curvisetus*, *P.pseudodelicatissima*, *S.costatum*, *Thalassionema nitzschioides*, *Leptocylindrus danicus*, *Dactyliosolen fragilissimus*, *Proboscia alata*, *Pseudosolenia calcar-avis*, in the autumn - *C. curvisetus*, *S.costatum*, *Th. nitzschioides*, *L. danicus*, *D. fragilissimus*

Ключевые слова: ФИТОПЛАНКТОН,
БИОМАССА, ЭЛЕМЕНТЫ МИНЕРАЛЬНОГО
ПИТАНИЯ, ДИАТОМОВЫЕ ВОДОРОСЛИ,
КОККОЛИТОФОРИДЫ

Keywords: PHYTOPLANKTON, BIOMASS,
MINERAL NUTRITION, DIATOMS,
COCCOLITHOPHORES

Введение

Важным аспектом аквакультуры одноклеточных водорослей является использование биомассы последних в качестве корма в аквакультуре беспозвоночных. На примере развития работ по культивированию микроводорослей – источников корма в аквакультуре проследим, как изменялась технология выращивания и вместе с ней конкретизировались целевые установки [1].

В настоящее время культивирование беспозвоночных включает в себя два этапа: получение молоди в регулируемых условиях и дальнейшее её выращивание на плантациях в море [2]. Необходимость добавления морских микроводорослей в корм молоди беспозвоночным была обоснована, когда Ватанабе и Экман [3] обнаружили, что пресноводные

водоросли бедны полиненасыщенными жирными кислотами, которые являются эссенциальными для потребителей. Практика, экспериментального культивирования моллюсков накопила значительный опыт использования морских одноклеточных водорослей [4,5,6]. Разные виды водорослей давали неодинаковый эффект при кормлении ими моллюсков [2,7]. Было показано, что химический состав монокультур водорослей существенно влияет на метаболизм моллюсков [8,9]. Обнаружен синергический эффект при переходе от монокультур к смешанным культурам [6]. Как при проведении небольших экспериментальных работ, так и при освоении крупномасштабных проектов марикультуры беспозвоночных применялись массовые монокультуры одноклеточных водорослей [10,11]. Часто монокультуры заражались другими видами, что требовало разработки профилактических мер.

При создании биотехнологии производства биомассы одноклеточных водорослей в качестве корма существует два метода:

1) В производстве используют культуру известных одноклеточных водорослей, поддержание чистоты которых всегда проблематично;

2) Получение биомассы водорослей на основе естественного фитопланктона путем добавления элементов минерального питания.

Второй метод наиболее простой с технической точки зрения и менее затратный. Для реализации этого метода нужно соблюдать следующие условия:

а) нужно знать исходное состояние фитопланктона на время проведения работ;

б) необходимо изучить влияние добавки элементов минерального питания на структуру фитопланктонного сообщества.

Но не все морские микроводоросли могут служить кормом в аквакультуре. Диатомея *Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima* входит в список токсичных водорослей Азовского и Черного морей. Её цветение причиняет ущерб популяциям морских млекопитающих и птиц, и служит существенной причиной экономических потерь из-за его воздействия на производительность моллюсков и планктоноядных рыб [12,13,14,15,16]. Поэтому необходимо знать условия, способствующие развитию данного вида.

Кокколитофорида используют в нанотехнологии. Так например, способность кокколитофорид образовывать дополнительный естественный защитный слой (кокколиты) вдохновила ученых на разработку новой стратегии доставки лекарственных препаратов. Примененная ими «стелс»-технология делает микроскопические полимерные пузырьки, содержащие жидкие лекарственные вещества, невидимыми для защитных систем организма [17].

В настоящей работе выявляются сезонные комплексы фитопланктона и приводятся данные по влиянию добавок азота и фосфора на структуру фитопланктонного сообщества в северо-восточной части Чёрного моря в различные сезоны.

Материалы и методы

С весны 2009 до ноября 2012 года проводили эксперименты с накопительной культурой природной популяции фитопланктона в береговой лаборатории ЮО ИО РАН (г. Геленджик). Объектом исследования служила смешанная культура водорослей, полученная на основе природного сообщества фитопланктона. Пробы были собраны с борта малого научно-исследовательского судна «Ашамба». Отбор проб производился с горизонта 0 м на станции стандартного разреза от Голубой бухты к центру моря. Станция располагалась над глубиной 50 м (район

срединного шельфа). Выращивание проводили в колбах Эрленмейера емкостью 500 мл (объем среды 200 мл) в термолюминостате, где температура среды соответствовала температуре морской воды в месте отбора проб. Интенсивность падающего света составляла 58-61 мкмоль/м² ФАР, свето-темновой режим – 16:8.

Идентификацию видов и подсчет числа клеток проводили ежедневно на световом микроскопе в счетной камере Ножотта объемом 0,05 мл. Биомассу рассчитывали методом «истинного объема» [18], при этом использовались данные собственных измерений. На основе найденных объемов клеток водорослей и учитывая их удельный вес, нами были определены средние веса всех встречаемых клеток фитопланктона. Далее, умножая средние веса на численность клеток, получали их биомассу. Опыты ставили с применением метода планирования экспериментов, которые позволяют получать уравнения регрессии, отражающие действие выбранных факторов на изучаемый параметр [19]. В экспериментах применяли периодический (накопительный) режим культивирования. Добавку элементов минерального питания (нитратов в форме KNO₃ и фосфатов в форме Na₂HPO₄) производили в начале эксперимента по единой схеме, представленной в таблице №1.

Таблица 1. План экспериментов по изучению влияния добавок элементов минерального питания на продукционные свойства.

Колба №	Нитраты KNO ₃ 12,1-14,3 мкМ	Фосфаты Na ₂ HPO ₄ 0,81-1 мкМ
1	-	-
2	+	-
3	-	+
4	+	+

В результате экспериментов получали кривую накопления клеток (или биомассы), для расчета уравнений регрессии использовалась значение этих параметров в стационарной фазе роста [1].

Результаты

Основными доминирующими видами диатомовых водорослей в экспериментах за период исследования были *Dactyliosolen fragilissimus*, *Chaetoceros curvisetus*, *Skeletonema costatum*, *Thalassionema nitzschioides*, *Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima*, *Leptocylindrus danicus*, *Proboscia alata*, *Pseudosolenia calcar-avis*. Из кокколитофорид преобладала *Emiliana huxleyi* (Табл.2).

Таблица 2 - Предельные биомассы доминирующих видов микроводорослей в различные сезоны 2009-2012 гг при одновременной добавке азота и фосфора.

Виды	Сезон	Биомасса, мг/м ³
Кокколитофориды		
<i>Emiliana huxleyi</i>	Весна	1800,00±84,47
	Лето	16920,00±1297,73
Диатомовые водоросли		
<i>Dactyliosolen fragilissimus</i>	Лето	55661,79±4283,25
	Осень	4010,45±240,79
<i>Chaetoceros curvisetus</i>	Весна	36741,00±3559,14
	Лето	32643,30±2435,79
	Осень	3800,47±236,63
<i>Skeletonema costatum</i>	Весна	10990,73±2634,87
	Лето	16996,88±2102,08
	Осень	5324,33±335,62
<i>Thalassionema nitzschioides</i>	Лето	3727,04±185,21
	Осень	1438,60±98,11
<i>Leptocylindrus danicus</i>	Лето	29117,55±2871,57
	Осень	8219,47±468,46
<i>Proboscia alata</i>	Лето	4491,08±383,22
<i>Pseudosolenia calcar-avis</i>	Лето	7226,60±81,41
<i>Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima</i>	Весна	48707,20±2571,26
	Лето	10063,04±682,02

Кокколитофорид *Emiliana huxleyi* присутствовала в лидирующем комплексе фитопланктонного сообщества северо-восточной части Черного моря весной и летом. Максимальная биомасса была в летнем сезоне (16920±1297,73 мг/м³) при повышении концентраций элементов минерального питания в накопительной культуре. В весеннем сезоне при совместной добавке азота и фосфора биомасса составила 1800,00±84,47 мг/м³. На рисунке 1 показан рост биомассы *E. huxleyi* в накопительной

культуре водорослей при различных добавках элементов минерального питания. Влияние совместной добавки азота и фосфора ведет к интенсивному росту биомассы *E. huxleyi*. Добавки азота и фосфора по отдельности не влияли на рост биомассы. Эти показатели были ниже контрольного опыта без добавления элементов.

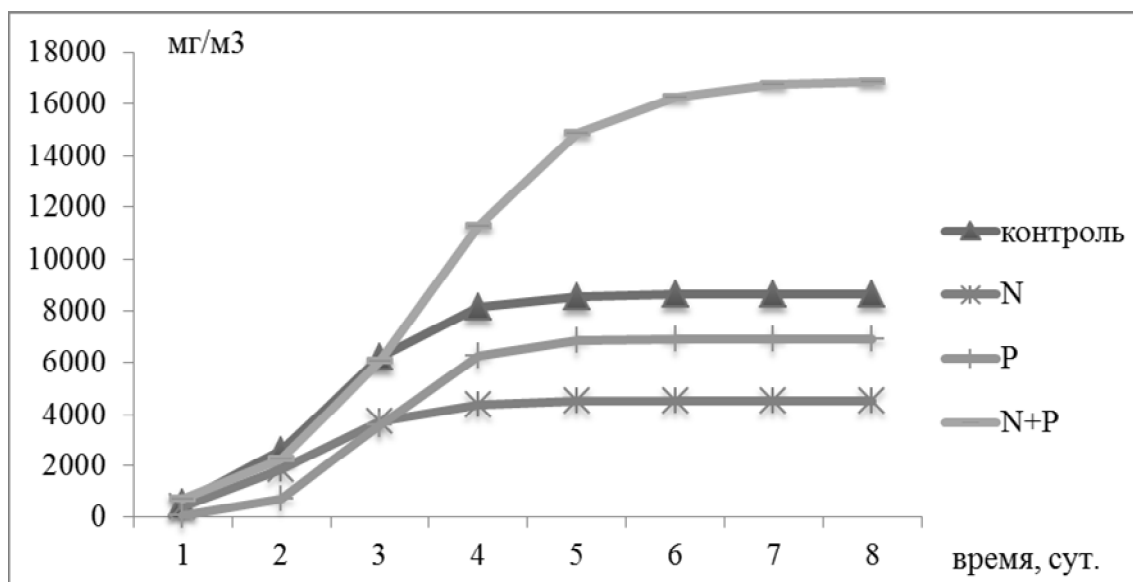


Рисунок 1. Рост биомассы *Emiliana huxleyi* в разных вариантах эксперимента. Опыт проведен 1 июня 2012 г.

Диатомовая водоросль *Dactyliosolen fragilissimus* доминировала в экспериментах в летние и осенние сезоны. Предельная биомасса вида была зафиксирована летом ($55661,79 \pm 4283,25$ мг/м³) в эксперименте с добавкой азота и фосфора в накопительную культуру водорослей. В осеннем сезоне в накопительной культуре с одновременной добавкой азота и фосфора биомасса составила $4010,45 \pm 240,79$ мг/м³. В качестве иллюстрации приведена динамика роста биомассы *D. fragilissimus* в различных вариантах эксперимента с природной популяцией фитопланктона северо-восточной части Черного моря (рис. 2). Из графика следует, что интенсивный рост биомассы водорослей происходит при совместной добавке азота и фосфора в накопительную культуру. Рост биомассы в

колбах, в которых добавляли только один элемент минерального питания, был ниже роста биомассы в колбе без добавок биогенных элементов.

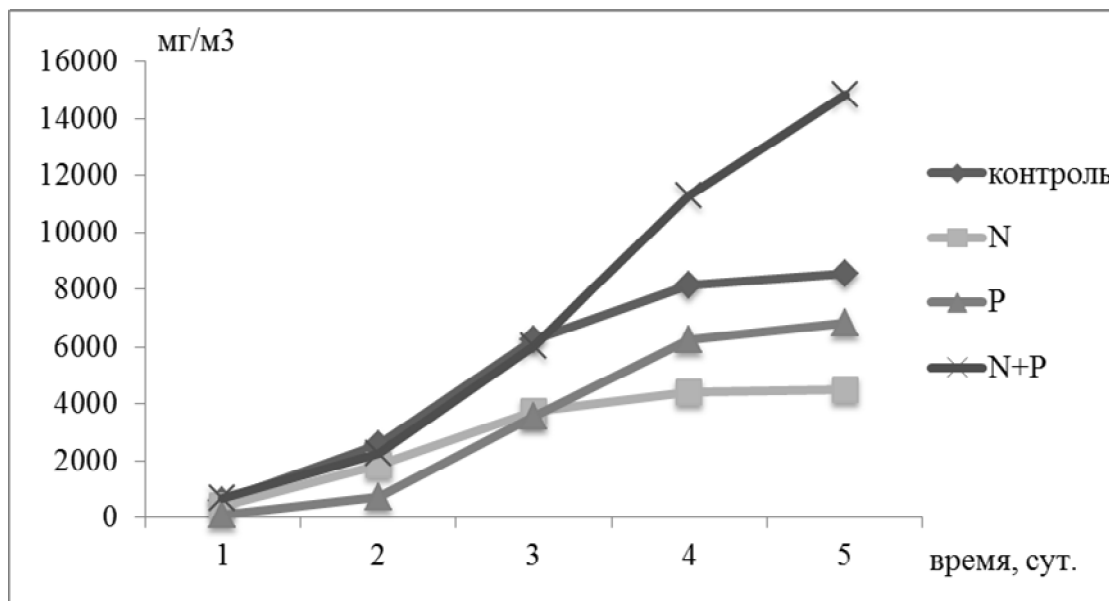


Рисунок 2. Рост биомассы *Dactyliosolen fragilissimus* в разных вариантах эксперимента. Опыт проведен 1 июня 2012 г.

Диатомовая водоросль *Chaetoceros curvisetus* входила в лидирующий комплекс фитопланктона шельфовой зоны северо-восточной части Чёрного моря во все сезоны. Максимальная биомасса вида была зафиксирована весной - $36741,00 \pm 3559,14$ мг/м³. Увеличение биомассы диатомовой водоросли *C. curvisetus* независимо от сезона происходило в опытах с добавлением азота и фосфора. Предельная биомасса для осеннего сезона составила $3800,47 \pm 236,63$ мг/м³, а для летнего - $32643,30 \pm 2435,79$ мг/м³.

Диатомовая водоросль *Skeletonema costatum* присутствовала в фитопланктоне в течение всего года. Максимальное накопление биомассы происходило летом ($16996,88 \pm 2102,08$ мг/м³) в экспериментах с совместной добавкой элементов минерального питания. В весенний период максимальный рост биомассы составил $10990,73 \pm 2634,87$ мг/м³, а осенью - $5324,33 \pm 335,62$ мг/м³.

Диатомея *Thalassionema nitzschioides* присутствовала в экспериментах с накопительной культурой водорослей в летне-осеннем сезоне. Как показали эксперименты, интенсивный рост биомассы происходит при совместной добавке азота и фосфора в накопительную культуру микроводорослей. Максимальные значения биомассы диатомея *T. nitzschioides* достигала в летнем сезоне - $3727,04 \pm 185,21$ мг/м³. Осенью предельная биомасса составляла $1438,60 \pm 98,11$ мг/м³.

Диатомовая водоросль *Leptocylindrus danicus* доминировала в фитопланктонном сообществе в летний и осенний периоды года. К интенсивному росту биомассы вида приводила совместная добавка азота и фосфора в накопительную культуру. Летом биомасса *L. danicus* была максимальной - $29117,55 \pm 2871,57$ мг/м³. Осенью биомасса составила $8219,47 \pm 468,46$ мг/м³.

Для получения продукции крупноклеточной диатомеи *Proboscia alata* необходима совместная добавка элементов минерального питания в летнем сезоне. В экспериментальных исследованиях максимальная биомасса *P. alata* составила $4491,08 \pm 383,22$ мг/м³.

Другая крупноклеточная диатомовая водоросль - *Pseudosolenia calcar-avis* показала прирост биомассы в летнем сезоне в колбе с добавкой фосфора ($7226,60 \pm 81,41$ мг/м³).

Диатомея *Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima* доминировала весной и летом. Максимальная биомасса вида была зафиксирована весной (28.05.2010) в эксперименте с добавкой азота и фосфора в накопительную культуру и составила $48707,20 \pm 2571,26$ мг/м³. В летнем сезоне рост биомассы диатомеи *P. pseudodelicatissima* происходил при совместной добавке элементов минерального питания в природную популяцию фитопланктона ($10063,04 \pm 682,02$ мг/м³).

Обсуждение

Диатомовые водоросли являются перспективным кормовым объектом как для личинок и молоди беспозвоночных. Высокое содержание белка и полиненасыщенных жирных кислот делают диатомей ценным пищевым объектом [20, 21]. Повышение содержания белка возможно только после снятия лимитирования по азоту.

Экспериментальные исследования с накопительной культурой фитопланктона позволяют выявить лимитирующие факторы продукционного процесса в целом. Однако выявление лимитирующих факторов для каждого вида в многокомпонентном сообществе не представляется тривиальной задачей. Так было выяснено, что для массового развития диатомеи *Skeletonema costatum* в устричном питомнике необходима питательная среда F/2, содержащая 30 мг/л кремния, круглосуточный режим 10 клк, температура 20-22°C [22].

Наши эксперименты показывают, что для повышения биомассы всех диатомовых водорослей в фитопланктонном сообществе необходимо одновременное повышение концентраций азота и фосфора в среде. Это указывает на то, что существующие концентрации этих веществ в море недостаточны для интенсивного роста этих водорослей. Одновременная добавка азота и фосфора, в которой отношение этих веществ близко к соотношению Редфилда, снимает лимитацию ростовых процессов. На это указывалось ранее в работах с фитопланктоном Черного моря [23]. Концентрация кремния не лимитирует ростовые процессы у диатомовых, поскольку в северо-восточной части Черного моря практически весь вегетационный период она достаточно высока [24]. Таким образом, только повышение концентрации двух элементов (азота и фосфора) приводит к существенному увеличению продукционного процесса.

Из экспериментальных исследований с природной популяцией фитопланктона следует, что доминирующие виды диатомовых водорослей, *Skeletonema costatum* и *Chaetoceros curvisetus* присутствовали в опытах в

течение всего периода исследований, *Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima* – летом и осенью. Диатомеи *Dactyliosolen fragilissimus*, *Thalassionema nitzschioides* и *Leptocylindrus danicus* встречались летом и осенью. Крупноклеточные диатомеи *Proboscia alata* и *Pseudosolenia calcar-avis* наблюдались только в летнем сезоне. Интенсивное развитие диатомей происходило при совместном добавлении азота и фосфора в накопительную культуру микроводорослей. У водорослей *D. fragilissimus*, *T. nitzschioides*, *L. danicus*, *P. alata*, *P. calcar-avis* и *S. costatum* максимальный прирост биомассы был летом. Для *P. pseudodelicatissima* максимальное накопление биомассы происходило весной, а для *S. curvisetus* – осенью. Эти виды почти всегда входят в доминирующий комплекс фитопланктона в соответствующий период [25].

Кокколитофорида *Emiliana huxleyi* доминировали в фитопланктонном сообществе северо-восточной части Черного моря весной и летом. Для получения её максимальной биомассы необходимо совместное добавление элементов минерального питания в начале июня. Именно в этот период этот вид доминирует в фитопланктонном сообществе, доля его превышает 90% по биомассе [23]. В другие сезоны рост кокколитофорид стимулирует добавка только фосфора [25].

Выводы

С помощью экспериментальных исследований удалось выявить доминирующие виды фитопланктона северо-восточной части Чёрного моря в разные сезоны года и определить условия их оптимального выращивания:

1. Весной доминирующими видами диатомей являются *Chaetoceros curvisetus*, *Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima* и *Skeletonema costatum*; летом – *C. curvisetus*, *S. costatum*, *P. pseudodelicatissima*, *Thalassionema nitzschioides*, *Leptocylindrus danicus*, *Dactyliosolen*

fragilissimus, *Proboscia alata*, *Pseudosolenia calcar-avis*; осенью – *C. curvisetus*, *S. costatum*, *T. nitzschioides*, *L. danicus*, *D. fragilissimus*. Весной и летом в фитопланктонном сообществе наиболее вероятно получение интенсивной культуры кокколитофориды *Emiliana huxleyi*.

2. Прирост биомассы диатомовых водорослей происходит при совместной добавке азота и фосфора в накопительную культуру фитопланктона. Для разных сезонов степень увеличения биомассы одних и тех же видов неодинакова. Весной биомасса *Skeletonema costatum* увеличивается в 3 раза, для *Chaetoceros curvisetus* – в 55 раз, для *Pseudonitzschia pseudodelicatissima* – более чем в 38 раз. В летнем сезоне биомасса *Dactyliosolen fragilissimus* повышается в 9 раз, *P. pseudodelicatissima* – в 2 раза, *C. curvisetus* – в 11 раз, *S. costatum* – в 70 раз, *Thalassionema nitzschioides* – в 38 раз, *Leptocylindrus danicus* – более чем в 440 раз. Для крупноклеточных диатомей *Proboscia alata* и *Pseudosolenia calcar-avis* подъема биомассы не происходило. В осеннем сезоне при добавке элементов минерального биомасса *C. curvisetus* увеличивается в 4 раза, *S. costatum* – более чем в 190 раз, *T. nitzschioides* – в 11 раз, *L. danicus* – более чем в 60 раз, *D. fragilissimus* – более чем в 20 раз.

Биомасса кокколитофорид увеличивается в 9 раз при одновременной добавке азота и фосфора только весной и в 3 раза в начале летнего периода.

Эти данные могут быть использованы при разработках нанотехнологий и выращивании корма для беспозвоночных в аквакультуре.

Список литературы

1. Силкин В.А., Хайлов К.М. Биоэкологические механизмы в аквакультуре. Л.: Наука, 1988. 230 с.
2. Persoone G. Mass culture of algae: a bottleneck in the nursery culturing of molluscs / Persoone G., Claus C. // J. Z. W. O. 1980. Vol. 11. P. 265-285.
3. Watanabe T. Lipids and fatty acids of the American (*Crassostrea virginica*) and European flat (*Ostrea edulis*) oysters from a common habitat, and after one feeding with

Dicrateria inornata or *Isochrysis galbana* / Watanabe T., Ackman R.G. // J. Fish. Res. Bd. Can. 1974. Vol. 31. P. 403-409.

4. Walne P. R. Growth rates and nitrogen and carbon hydrate contents of juvenile clams, *Saxidomus giganteus*, for three species of algae / J. Fish. Res. Bd. Can. 1974. Vol. 30. P. 1825-1830.

5. Mann R. Growth of six species of bivalve molluscs in a waste recycling aquaculture system / Mann R., Ryther J. // Aquaculture. 1977. Vol. 11. P. 231-245.

6. Epifanio C. E. Growth in bivalve molluscs: nutritional effect of two or more species of algae in diet fed to the American oyster *Crassostrea virginica* and the hard clam *Mercenaria mercenaria* // Aquaculture. 1979. Vol. 18. P. 1-12.

7. Tenore K. R. Comparison of rate of feeding and biodeposition on the american oyster, *Crassostrea virginica* Gmelin, fed different species of phytoplankton / Tenore K. R., Dunstan W. M. // J. Exper. Mar. boil. Ecol. 1973. Vol. 12. P. 19-26.

8. Flaak A. R. Dietary protein levels and growth of the oyster *Crassostrea virginica* / Flaak A. R., Epifanio C. E. // Mar. Boil. 1978. Vol. 45. P. 157-163.

9. Gallager S.M. The effect of varying carbon nitrogen ratio in the phytoplankter *Thalassiosira pseudonana* (3H) on its food value to the bivalve *Tapes japonica* / Gallager S.M., Mann R. // Aquaculture. 1981. Vol. 26. P. 95-105.

10. Ansell A. D. Studies on the culture of *Phaeodactylum*. II. The growth of *Phaeodactylum* and other species in outdoor Tanks / Ansell A. D., Raymont J. E. G., Lander K. F. et al. // Limnol. Oceanogr. 1963. N 8. P. 184-206.

11. Witt U. Production of *Nannochloris spec.* (Chlorophyceae) in Jargescale outdoor tanks and its use as a food organism in marine aquaculture / Witt U., Koske P. H., Kuhlmann D. et al. // Aquaculture. 1981. Vol. 23. P. 171-181.

12. Fritz L. An outbreak of domoic acid poisoning attributed to the pennate diatom *Pseudonitzschia australis* / Fritz L., Quilliam M. A., Wright J.L.C., Beale A. M., Work T.M. // J Phycol. 1992. N 28. P. 439-442.

13. Horner R.A. Retention of domoic acid by Pacific Razor Clams, *Siliqua-patula* (Dixon, 1789) - preliminary study / Horner R.A., Kusske M.B., Moynihan B.P., Skinner R.N., Wekell J.C. // J Shellfish Res. 1993. N 12. P. 451-456.

14. Beltran A.S. Sea bird mortality at Cabo San Lucas, Mexico: Evidence that toxic diatom blooms are spreading / Beltran A.S., Palafox-Urbe M., Grajales-Montiel J., Cruz-Villacorta A., Ochoa J.L. // Toxicon. 1997. N 35. P. 447-453.

15. Scholin C.A. Mortality of sea lions along the central California coast linked to a toxic diatom bloom / Scholin CA, Gulland F, Doucette GJ, Benson S and 22 others // Nature. 2000. N 403. P. 80-84.

16. Wekell J.C. A study of spatial variability of domoic acid in razor clams: recommendations for resource management on the Washington coast / Wekell J.C., Trainer V.L., Ayres D., Simons D. // Harmful Algae. 2002. N 1. P. 35-43.

17. Rong Chen. Polymer vesicles with a colloidal armor of nanoparticles / Rong Chen, Daniel J. G. Pearce, Sara Fortuna, David L. Cheung, Stefan A.F. Bon. // American Chemical Society. 2011. Vol. 133. №7. P. 2151-2153.

18. Киселев И.А. Планктон морей и континентальных водоемов. Том 1. Л.: Наука, 1969. 657с.

19. Максимов В.Н., В.Д. Федоров. Применение методов математического планирования эксперимента при отыскании оптимальных условий культивирования организмов. М.: Изд-во МГУ, 1969. 128 с.

20. Viso A. Fatty acids from 28 marine microalgae / Viso A., Marty J.C. // Phytochemistry. 1993. Vol. 34. №6. P. 1521-1523.

21. Whyte J.C. Biochemical composition and energy content of six species of phytoplankton used in mariculture of bivalve // *Aquaculture*. Vol. 60. №3. P. 231-241.
22. Ладыгина Л.В. Оптимизация условий культивирования диатомовой микроводоросли *Skeletonema costatum* Cleve – корма для двустворчатых моллюсков // *Морська гідробіологія*. 2010. №3. С.137-140.
23. Силкин В.А. Рост кокколитофориды *Emiliana huxleyi* (Lohmann) of Hay et Mohler в северо-восточной части Черного моря, лимитированный концентрацией фосфора / Силкин В.А., Паутова Л.А., Микаэлян А.С. // *Альгология*. 2009. Т. 19. №2. С. 135-144.
24. Yakushev E.V. Seasonal and interannual variability of hydrology and nutrients in the Northeastern Black Sea / Yakushev E.V., Arhipkin, V.S., Antipova, E.A., Kovaleva, I.N., Chasovnikov, V.K., Podymov, O.I. // *Chemistry and Ecology*. 2007. № 23. P. 29-41.
25. Силкин В.А. Физиологические механизмы регуляции структуры морских фитопланктонных сообществ / Силкин В.А., Паутова Л.А., Лифанчук А.В. // *Физиология растений*. 2013. Т. 60. №4. С. 574-581.

References

1. Silkin V.A., Hajlov K.M. *Biojekologicheskie mehanizmy v akvakul'ture*. L.: Nauka, 1988. 230 s.
2. Persoone G. Mass culture of algae: a bottleneck in the nursery culturing of molluscs / Persoone G., Claus C. // *J. Z. W. O.* 1980. Vol. 11. P. 265-285.
3. Watanabe T. Lipids and fatty acids of the American (*Crassostrea virginica*) and European flat (*Ostrea edulis*) oysters from a common habitat, and after one feeding with *Dicrateria inornata* or *Isochrysis galbana* / Watanabe T., Ackman R.G. // *J. Fish. Res. Bd. Can.* 1974. Vol. 31. P. 403-409.
4. Walne P. R. Growth rates and nitrogen and carbon hydrate contents of juvenile clams, *Saxidomus giganteus*, for three species of algae / *J. Fish. Res. Bd. Can.* 1974. Vol. 30. P. 1825-1830.
5. Mann R. Growth of six species of bivalve molluscs in a waste recycling aquaculture system / Mann R., Ryther J. // *Aquaculture*. 1977. Vol. 11. P. 231-245.
6. Epifanio C. E. Growth in bivalve molluscs: nutritional effect of two or more species of algae in diet fed to the American oyster *Crassostrea virginica* and the hard clam *Mercenaria mercenaria* // *Aquaculture*. 1979. Vol. 18. P. 1-12.
7. Tenore K. R. Comparison of rate of feeding and biodeposition on the american oyster, *Crassostrea virginica* Gmelin, fed different species of phytoplankton / Tenore K. R., Dunstan W. M. // *J. Exper. Mar. boil. Ecol.* 1973. Vol. 12. P. 19-26.
8. Flaak A. R. Dietary protein levels and growth of the oyster *Crassostrea Virginia* / Flaak A. R., Epifanio C. E. // *Mar. Boil.* 1978. Vol. 45. P. 157-163.
9. Gallager S.M. The effect of varying carbon nitrogen ratio in the phytoplankter *Thalassiosira pseudonana* (3H) on its food value to the bivalve *Tapes japonica* / Gallager S.M., Mann R. // *Aquaculture*. 1981. Vol. 26. P. 95-105.
10. Ansell A. D. Studies on the culture of *Phaeodactylum*. II. The growth of *Phaeodactylum* and other species in outdoor Tanks / Ansell A. D., Raymont J. E. G., Lander K. F. et al. // *Limnol. Oceanogr.* 1963. N 8. P. 184-206.
11. Witt U. Production of *Nannochloris spec.* (Chlorophyceae) in Jargescale outdoor tanks and its use as a food organism in marine aquaculture / Witt U., Koske P. H., Kuhlmann D. et al. // *Aquaculture*. 1981. Vol. 23. P. 171-181.

12. Fritz L. An outbreak of domoic acid poisoning attributed to the pennate diatom *Pseudonitzschia australis* / Fritz L., Quilliam M. A., Wright J.L.C., Beale A. M., Work T.M. // *J Phycol.* 1992. N 28. P. 439-442.
13. Horner R.A. Retention of domoic acid by Pacific Razor Clams, *Siliqua-patula* (Dixon, 1789) - preliminary study / Horner R.A., Kusske M.B., Moynihan B.P., Skinner R.N., Wekell J.C. // *J Shellfish Res.* 1993. N 12. P. 451-456.
14. Beltran A.S. Sea bird mortality at Cabo San Lucas, Mexico: Evidence that toxic diatom blooms are spreading / Beltran A.S., Palafox-Uribe M., Grajales-Montiel J., Cruz-Villacorta A., Ochoa J.L. // *Toxicon.* 1997. N 35. P. 447-453.
15. Scholin C.A. Mortality of sea lions along the central California coast linked to a toxic diatom bloom / Scholin CA, Gulland F, Doucette GJ, Benson S and 22 others // *Nature.* 2000. N 403. P. 80-84.
16. Wekell J.C. A study of spatial variability of domoic acid in razor clams: recommendations for resource management on the Washington coast / Wekell J.C., Trainer V.L., Ayres D., Simons D. // *Harmful Algae.* 2002. N 1. P. 35-43.
17. Rong Chen. Polymer vesicles with a colloidal armor of nanoparticles / Rong Chen, Daniel J. G. Pearce, Sara Fortuna, David L. Cheung, Stefan A.F. Bon. // *American Chemical Society.* 2011. Vol. 133. №7. P. 2151-2153.
18. Kiselev I.A. Plankton morej i kontinental'nyh vodoemov. Tom 1. L.: Nauka, 1969. 657s.
19. Maksimov V.N., V.D. Fedorov. *Primenenie metodov matematicheskogo planirovanija jeksperimenta pri otskani optimal'nyh uslovij kul'tivirovanija organizmov.* M.: Izd-vo MGU, 1969. 128 s.
20. Viso A. Fatty acids from 28 marine microalgae / Viso A., Marty J.C. // *Phytochemistry.* 1993. Vol. 34. №6. P. 1521-1523.
21. Whyte J.C. Biochemical composition and energy content of six species of phytoplankton used in mariculture of bivalve // *Aquaculture.* Vol. 60. №3. P. 231-241.
22. Ladygina L.V. Optimizacija uslovij kul'tivirovanija diatomovoj mikrovodorosli *Skeletonema costatum* Cleve – korma dlja dvustvorchatyh molljuskov // *Mors'ka gidrobiologija.* 2010. №3. S.137-140.
23. Silkin V.A. Rost kokkolitoforidy *Emiliana huxleyi* (Lohmann) of Hay et Mohler v severo-vostochnoj chasti Chernogo morja, limitirovannyj koncentraciej fosfora / Silkin V.A., Pautova L.A., Mikajeljan A.S. // *Al'gologija.* 2009. T. 19. №2. S. 135-144.
24. Yakushev E.V. Seasonal and interannual variability of hydrology and nutrients in the Northeastern Black Sea / Yakushev E.V., Arhipkin, V.S., Antipova, E.A., Kovaleva, I.N., Chasovnikov, V.K., Podymov, O.I. // *Chemistry and Ecology.* 2007. № 23. P. 29-41.
25. Silkin V.A. Fiziologicheskie mehanizmy reguljaccii struktury morskih fitoplanktonnyh soobshhestv / Silkin V.A., Pautova L.A., Lifanchuk A.V. // *Fiziologija rastenij.* 2013. T. 60. №4. S. 574-581.