

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/296701608>

# GUIDELINES FOR QUALITY CONTROL OF THE BLACK SEA. MICROPHYTOBENTHOS

Book · December 2015

CITATIONS

0

READS

110

4 authors, including:



[Elena Nevrova](#)

A.O. Kovalevsky Institute of Marine Biological Research of Russian Academy of Sciences

47 PUBLICATIONS 151 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



[Anastasiya Snigirova](#)

Odessa National University

16 PUBLICATIONS 9 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



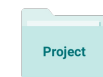
[Galina Vitalievna Kovaleva](#)

Institute of Arid Zones Russian Academy of Sciences

36 PUBLICATIONS 37 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



Microalgae of sandy coasts [View project](#)



Ландшафтно-климатические и палеоокеанологические трансформации в экосистемах бассейнов внутренних морей в голоцене [View project](#)



Е.Л. Неврова, А.А. Снигирева, А.Н. Петров, Г.В. Ковалева

РУКОВОДСТВО ПО ИЗУЧЕНИЮ МОРСКОГО МИКРОФИТОБЕНТОСА И ЕГО ПРИМЕНЕНИЮ ДЛЯ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА СРЕДЫ

Е.Л. Неврова, А.А. Снигирева,  
А.Н. Петров, Г.В. Ковалева



**РУКОВОДСТВО ПО ИЗУЧЕНИЮ  
МОРСКОГО МИКРОФИТОБЕНТОСА  
И ЕГО ПРИМЕНЕНИЮ  
ДЛЯ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА СРЕДЫ**



ИМБИ - IMBR



РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ  
ИНСТИТУТ МОРСКИХ БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ  
ИМ. А.О. КОВАЛЕВСКОГО

Е.Л. Неврова, А.А. Снигирева,  
А.Н. Петров, Г.В. Ковалева

**РУКОВОДСТВО  
ПО ИЗУЧЕНИЮ МОРСКОГО  
МИКРОФИТОБЕНТОСА И ЕГО ПРИМЕНЕНИЮ  
ДЛЯ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА СРЕДЫ**



Севастополь – Симферополь  
2015

**УДК 581.526.323:579+504.064.3**  
**ББК 28.082.28.591**  
**Р84**

Научный редактор: д.б.н., проф. А.В. Гаевская  
Рецензенты: академик НАНУ д.б.н., проф. В.Н. Егоров, д.б.н. С.В. Кренева

Авторы: **Е.Л. Неврова** (ФГБУН Институт морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского РАН, Севастополь, Россия),  
**А.А. Снигирева** (Одесский национальный университет им. И.И. Мечникова, Одесса, Украина),  
**А.Н. Петров** (ФГБУН Институт морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского РАН, Севастополь, Россия),  
**Г.В. Ковалева** (ФГБУН Институт аридных зон ЮНЦ РАН, Ростов-на-Дону, Россия)

**Руководство по изучению морского микрофитобентоса и его применению для контроля качества среды / Е.Л. Неврова, А.А. Снигирева, А.Н. Петров, Г.В. Ковалева ; ред. А.В. Гаевская. – Севастополь - Симферополь : Н.Орианда, 2015. – 176 с. : 19 илл., 4 табл., 5 прил.**  
ISBN 978-5-9907290-2-5

Руководство по изучению морского микрофитобентоса содержит методические рекомендации по отбору, обработке и различным видам анализа бентосных микроводорослей Черного моря. Предложено использовать индикационные возможности микрофитов при оценке воздействия экологических стрессоров на показатели количественного развития, распределения и таксономическую структуру таксоценов. Обсуждено применение различных формализованных методов, в том числе индекса таксономической отличительности (TaxDI), для оценки биоразнообразия и состояния среды с помощью основных компонентов сообществ микрофитобентоса. Приложения содержат перечень публикаций, используемых при идентификации видов, аппроксимацию к геометрическим фигурам и поправочные коэффициенты для диатомовых, формулы расчета объема и площади поверхности одноклеточных водорослей, список видов микрофитобентоса северо-западной части Черного моря (Cyanobacteria, Ochrophyta, Dinophyta, Cryptophyta, Haptophyta, Bigyra, Euglenozoa, Protozoa Incertae Sedis, Chlorophyta), список видов микрофитобентоса северо-западной части Черного моря (Bacillariophyta). Для специалистов в области мониторинга и охраны окружающей среды, экологов, ботаников, гидробиологов, преподавателей и студентов высших учебных заведений.

Печатается по постановлению Ученого совета ФГБУН ИМБИ им. А.О. Ковалевского РАН, протокол № 6 от 29.09.2015 года.

УДК 581.526.323:579+504.064.3  
ББК 28.082.28.591

Guidelines from quality control of the Black Sea. Microphytobenthos / E.L. Nevrova, A.A. Snigireva, A.N. Petrov, G.V. Kovaleva ; Ed. A.V. Gaevskaya. Sevastopol – Simferopol : N. Orianda, 2015. – 176 p. : 19 ill., 4 tabl., 5 annex.

A Guideline from quality control of the marine microphytobenthos consists of methodical recommendations for sampling, treatment, laboratory processing and different kinds of analysis of the Black Sea benthic microalgae. It is recommended to apply the indication capabilities of microphytes for assessment the environmental stressors impact upon quantitative indices, distribution pattern and taxonomic structure of taxocenoses. Application of different structural indices and non-parametric methods including taxonomic distinctness indices (TaxDI) for assessment of biodiversity features and condition of main components of microphytobenthic assemblages in different environment had discussed. The Annexes are comprised of the list of references using for taxonomical identification of species, algorithms for approximation the shape of cells by geometric figures, formulas and correction factors for calculation of volume and surface area of unicellular microalgae and, besides the check-list of microphytobenthos (Cyanobacteria, Ochrophyta, Dinophyta, Cryptophyta, Haptophyta, Bigyra, Euglenozoa, Protozoa Incertae Sedis, Chlorophyta), and updated list of benthic diatoms (Bacillariophyta) from north-western part of the Black Sea. The Guidelines is designated for hydrobiologists, ecologists, botanists, experts in ecological monitoring and wild-life conservation, and for university lecturers and students of biological specialties.

© Неврова Е.Л., Снигирева А.А., Петров А.Н.,  
Ковалева Г.В., текст, иллюстрации, 2015  
© ФГБУН ИМБИ им. А.О. Ковалевского РАН, 2015  
© Н.Орианда, 2015

ISBN 978-5-9907290-2-5

## СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОНЯТИЙ	9
2. СООБЩЕСТВА МИКРОФИТОБЕНТОСА ЧЕРНОГО МОРЯ: СОСТОЯНИЕ ИЗУЧЕННОСТИ	12
3. МЕТОДЫ ОТБОРА ПРОБ МИКРОФИТОБЕНТОСА	15
3.1. Выбор полигона исследований и сезона отбора проб	15
3.2. Планирование усилий пробоотбора	16
3.3. Методы качественного отбора проб	19
3.4. Методы количественного отбора проб	20
3.5. Определение факторов среды	22
3.6. Методы фиксации и хранения проб	25
4. ОБРАБОТКА МАТЕРИАЛА И ПОДГОТОВКА ДАННЫХ ДЛЯ АНАЛИЗА	26
4.1. Предварительный просмотр качественных проб	26
4.2. Отделение микроводорослей от субстрата	27
4.3. Количественный учет микроводорослей	28
4.4. Изготовление постоянных препаратов жгутиковых и беспанцирных микроводорослей	31
4.5. Изготовление постоянных препаратов диатомовых	32
4.6. Идентификация видов микроводорослей	35
4.7. Создание списков видов и формирование баз данных	39
5. ОПРЕДЕЛЕНИЕ МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК МИКРОВОДОРОСЛЕЙ	40
5.1. Определение объема клеток микроводорослей с помощью метода истинного объема	40
5.2. Определение объема и площади поверхности клеток донных диатомовых с помощью метода построения трехмерных геометрических моделей	43
6. МАТЕМАТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОБРАБОТКИ РЕЗУЛЬТАТОВ	45
6.1. Оценка видового разнообразия сообществ микрофитобентоса	45
6.2. Анализ таксономической структуры сообщества микрофитобентоса	50
6.3. Анализ встречаемости видов и выделение видов с рангом высокой и наивысшей таксономической исключительности	60
6.4. Оценка воспроизводимости и достоверности	

определения в пробах видового состава диатомовых	64
6.5. Выделение значимых компонентов сообществ микрофитобентоса	68
7. ОЦЕНКА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ СРЕДЫ С ПОМОЩЬЮ КОМПОНЕНТОВ СООБЩЕСТВ МИКРОФИТОБЕНТОСА	75
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	78
Приложение I. СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ПРИ ИДЕНТИФИКАЦИИ ВИДОВ	96
Приложение II. Приравнивание к геометрическим фигурам и поправочные коэффициенты для некоторых видов диатомовых водорослей	103
Приложение III. Стандартные формулы расчета объема, полной и боковой площади поверхности одноклеточных водорослей	104
Приложение IV. Список видов микрофитобентоса северо- западной части Черного моря (Cyanobacteria, Ochrophyta, Dinophyta, Cryptophyta, Haptophyta, Bigyra, Euglenozoa, Protozoa Incertae Sedis, Chlorophyta)	109
Приложение V. Список видов микрофитобентоса северо- западной части Чёрного моря (Bacillariophyta)	124

## ВВЕДЕНИЕ

Оценка состояния биоты черноморского шельфа, особенно в районах, подверженных антропогенному загрязнению, составляет основную часть экологического мониторинга. Основой для проведения подобного мониторинга является сбор данных, анализ которых способен выявить ключевые изменения в биотопах на различных уровнях – видов, популяций, сообществ. К сожалению, в традиционном мониторинге морских экосистем использование микрофитобентоса встречается редко, хотя среди иных биоиндикаторов он может играть важную роль в оценке экологических изменений, поскольку является основой продукционных связей. Биомасса донных микрофитов сопоставима с таковой фитопланктонных, а вместе они формируют 40-45% первичной продукции биосферы. Микроводоросли могут фиксировать около 20% углерода в год, поэтому их роль в глобальном цикле углерода сравнима с ролью тропических дождевых лесов [Заика, 1982; Mann, 1999; The Diatom World, 2011]. Сообщество микрофитобентоса зоны шельфа состоит из эукариотных и прокариотных микроорганизмов. Главным компонентом микрофитобентоса по обилию, видовому богатству и значимости в функционировании сообществ шельфовой зоны является отдел Bacillariophyta, на долю которого приходится до 99% численности и биомассы сообщества. Бентосные диатомовые чувствительны к изменению факторов окружающей среды, в том числе поллютантов различного генезиса, и могут служить индикаторами при комплексной оценке воздействия экологических стрессоров на показатели развития, распределения и таксономическую структуру таксоценов [Барина и др., 2006; Гусяков, 1980; Петров и др., 2005; Petrov et al., 2010; Round, 1991].

Одной из ключевых проблем мониторинга водных экосистем является определение количественных показателей биоты, способных характеризовать качество морской среды [Borja et al., 2010 a]. Во исполнение требований Water Framework Directive (WFD) [European Commission, 2000] о поддержании оптимального экологического состояния (Good Ecological State, GES) природных ресурсов, поверхностные воды в странах ЕС подвергаются постоянному контролю, причем диатомовые водоросли используются в качестве биоиндикаторов состояния среды при мониторинге водных ресурсов уже в течение ряда лет. Экологическое просвещение должно начинаться с раннего возраста. Так, разработанный под руководством проф. Sh. Mayama (Tokyo Gekugei University, Japan) Международный проект по экологическому образованию "Диатомовые водоросли" [Mayama et al., 2010], состоящий из образовательного модуля, учебного фильма и моделирующего программного пакета SimRiver, позволяет устанавливать взаимосвязь между деятельностью человека, изменениями различных условий водной среды и реакцией

диатомовых на негативные воздействия. Комплексная мультязыковая программа используется в средних и высших учебных заведениях по всему миру с целью введения в экологию водных экосистем, ознакомления с основами диатомологии и базовыми методами биоиндикации.

За последние десятилетия разработано немало индексов оценки качества воды и экологического статуса акваторий, в которых используются показатели состояния диатомовых: diatomic index, diversity index, diatom assemblage index, generic diatom index, Multimetric Diatomaceous Indices, trophic diatom index и др. [Kelly et al., 1998; Kelly, Ector, 2012; Martin et al., 2010; Rimet, Bouchez, 2011; Sabater, 2000; Tapia, 2008; Taylor et al., 2007; Torrisi et al., 2006 a, b, 2008, 2010; Triest et al., 2001], но все они применимы только для речных и озерных экосистем.

При проведении экологического мониторинга необходима унификация методов отбора, обработки и количественного анализа проб, интеркалибрация таксономического определения, стандартизация при интерпретации полученных результатов. Обычная практика заключается в том, что методики оценки качества среды (Environment Quality Assessment) разрабатываются экспертными группами, а затем оцениваются по системе, предложенной SGQAB (Steering Group on Quality Assurance of Biological Measurements). Данные методики являются частью общей деятельности по мониторингу и должны быть проведены до начала фактического мониторинга.

Так, коллегами из Института морских наук (Университет г. Щецина, Польша) разработана система постоянного национального мониторинга качества поверхностных вод в соответствии с требованиями EU WFD [Bał et al., 2012; Bał, Witkowski, 2013]. Все водные природные и искусственные местообитания (лотические и лентические) подразделены на группы, включающие 22 типа рек и ручьев и 13 типов водохранилищ. Для каждой группы выделены соответствующие комплексы видов диатомовых, наилучшим образом соответствующие для использования в качестве критериев оптимального состояния среды GES. Для оценки экологического статуса водоемов разработаны многомерные диатомовые индексы (IO для рек и IOJ для озер, прудов, болот и водохранилищ). Результат оценки местообитания с применением данных индексов соотносится с одним из пяти статусов экологического состояния: очень хороший, хороший, умеренный, плохой, очень плохой.

При проведении мониторинга с использованием диатомовых водорослей ответственность возлагается как на исследователя, так и на агентства по инспекции и охране среды, для которых проводятся специальные обучающие курсы. Циклы лекций и практических занятий освещают все стадии биомониторинга, начиная от выбора места, методики отбора, обработки, анализа и хранения проб, и до обучения



таксономической идентификации. Государственная система мониторинга в Польше, организованная Главным Инспекторатом охраны среды (Chief Inspectorate for Environmental Protection in Poland – IEP), образует разветвленную сеть станций и осуществляет мониторинг одновременно по всей территории Польши.

Применение данной комплексной методики проведения мониторинга в Польше способно принести наиболее полные и верифицированные данные для оценки качества водных биотопов с использованием пресноводных Bacillariophyta.

Директива ЕС по морской стратегии (Marine Strategy Framework Directive, MSFD) предлагает рассматривать GES на принципиально новом уровне, направленном на достижение оптимального статуса морской среды (Good Environmental State, GEnS), предполагая изучение структуры, функции и процессов в морских экосистемах, и учитывая всевозможные факторы, включая антропогенные [European Commission, 2008].

Выявление индикаторов для интегральной оценки состояния морских акваторий является центральной задачей для выполнения MSFD [Rice et al., 2012]. В настоящее время подходы и методы к достижению GEnS активно разрабатываются [Borja et al., 2010 b; HELCOM, 2010; Claussen et al., 2011]. В работе A. Borja с соавторами [Borja et al., 2013] предложены 8 показателей соответствия морской акватории критериям GEnS, а всего в рамках MSFD разработано уже 11 дескрипторов, объединяющих 29 критериев и 56 индикаторов [European Commission, 2010]. Однако остается открытым вопрос о выборе тех или иных критериев и индикаторов, характеризующих морские местообитания в определенных ситуациях, например, состояние нормы или разной степени нарушения. Нужно определить те нормы и условия, характеризующие оптимальное состояние морской среды, отклонение от которых сигнализирует об изменениях. Для этого необходимо унифицировать методы морских исследований, с тем, чтобы исследователи разных регионов могли использовать единые индикаторы. Требуется также определить количественные показатели оптимального состояния морской среды [Borja et al., 2010 a]. Ключевым моментом в этом подходе является выявление индикаторов биологического разнообразия.

Базовая методология предлагаемой нами методики, помимо выделения индикационных и дискриминаторных видов, основана на анализе количественных показателей и таксономического разнообразия морского микрофитобентоса в местообитаниях с различным уровнем антропогенного и техногенного загрязнения.

В донных отложениях прибрежных акваторий в наибольшей степени концентрируются соединения тяжелых металлов, органические поллютанты, включая ПХБ, пестициды,

полиароматические углеводороды (ПАУ) и нефтепродукты, поступающие в морскую среду из различных источников, в первую очередь – с береговыми стоками. Актуальность исследований распределения в грунтах различного рода загрязняющих веществ и их влияния на показатели разнообразия бентосных сообществ становится особенно острой при достижении поллютантами критических концентраций и перехода их от микроэлементов к токсикантам. В то же время, по мнению экспертов Black Sea Environmental Program [Black Sea Biological Diversity, Ukraine, 1998], распределение различных загрязнителей в прибрежной зоне Черного моря и реакция на них разных групп бентоса изучены недостаточно, а оценка откликов диатомовых на техногенный стресс почти не исследована. По этой причине определение индикаторной роли донных диатомовых при комплексной оценке воздействия поллютантов различного генезиса на состояние сообществ микрофитобентоса следует признать одной из важнейших задач, имеющих фундаментальное и прикладное значение [Петров, Неврова, 2004].

Одной из задач мониторинга является также оценка компонентов разнообразия сообществ микрофитобентоса в разных экологических условиях, что необходимо для сохранения генофонда видов и поддержания структурно-функциональных связей между звеньями экосистемы для ее устойчивого функционирования. Осуществление количественной оценки разнообразия должно объединять знания многих биологических дисциплин [Адрианов, 2004; Касьянов, 2002; Протасов, 2002].

Интенсивность участия микроводорослей бентоса в процессах трансформации вещества и энергии в экосистемах шельфа зависит от метаболизма отдельных особей, популяций и таксоценов, что определяется характеристиками объема и площади поверхности клеток. Для оценки таких морфометрических характеристик микроводорослей традиционно используется метод истинных объемов, при котором форма клеток аппроксимируется набором геометрических фигур [Миничева и др., 2003; Численко, 1968]. Данный метод дает удовлетворительные результаты при оценке клеток микроводорослей с относительно простыми формами, но для клеток со сложной формой панциря (каковыми является большинство видов *Bacillariophyta*) он является недостаточно корректным. Это приводит к большим погрешностям при определении параметров уравнений трофо-динамического баланса. В связи с этим важной задачей является разработка методов точного расчета объема и площади поверхности клеток диатомовых на основе 3D-моделирования их формы [Лях, 2010, 2012; Лях, Брянцева, 2006; Лях, Неврова, 2010; Неврова, Лях, 2006].

В нашей работе предпринята одна из первых в регионе Черного моря попыток разработать методические рекомендации для применения морского микрофитобентоса в качестве биоиндикатора

при мониторинге морской сублиторали. Основной целью данного руководства является оценка и анализ показателей разнообразия и структурно-функциональных характеристик сообществ микрофитобентоса в различных экологических условиях как основы для разработки и внедрения методов биоиндикации и рекомендаций при проведении мониторинга черноморского шельфа.

Для достижения данной цели необходимо решить следующие задачи:

- Определить и оценить структурные показатели основных компонентов сообществ микрофитобентоса в различных биотопах прибрежной зоны, включая зоны супра-, суб- и литорали;
- Выделить в составе сообществ ключевые виды микроводорослей (индикационные и дискриминационные), вносящие наибольший вклад в сходство или различие между комплексами диатомовых из разных биотопов, а также виды, потенциально опасные при их интенсивном «цветении»;
- Выявить изменения в пространственном распределении и структуре сообществ микрофитобентоса под влиянием различных стрессоров природного и техногенного характера.