

## Видовой состав и плотность диатомовых водорослей рода *Pseudo-nitzschia* Н. Peragallo, 1900 (Bacillariophyta) в летнем планктоне Дальневосточного морского заповедника

И. В. Стоник, А. А. Зинов, А. П. Цурпало\*

Национальный научный центр морской биологии им. А. В. Жирмунского ДВО РАН  
Владивосток, 690041, Российская Федерация  
e-mail: innast2004@mail.ru

### Аннотация

Приведены сведения о видовом составе и плотности клеток диатомовых водорослей рода *Pseudo-nitzschia* из летнего фитопланктона акватории Дальневосточного морского заповедника. Обнаружено 6 видов, среди которых 5 известны как потенциальные продуценты нейротоксичной домоевой кислоты. Виды *P. delicatissima* и *P. hasleana* впервые найдены в районе исследования. Плотность *Pseudo-nitzschia* spp. изменялась от 0,8 до 5,6 тыс. кл·л<sup>-1</sup>. Наиболее многочисленными (плотность более 2103 кл·л<sup>-1</sup>) оказались *P. calliantha*, *P. delicatissima*, *P. hasleana*, *P. pungens*. Домоевая кислота зарегистрирована в культуре *P. delicatissima* при концентрации 0.013 пг·кл<sup>-1</sup>. Относительно низкая плотность потенциально токсичных диатомей указывает на отсутствие опасности возникновения случаев отравления домоевой кислотой в летний период в районе исследования.

**Ключевые слова:** диатомовые водоросли, *Pseudo-nitzschia*, домоевая кислота, Дальневосточный морской заповедник, Японское море.

**Введение.** Виды рода *Pseudo-nitzschia* Н. Peragallo, 1900 привлекают внимание исследователей как продуценты домоевой кислоты (ДК) — нейротоксина, который передаётся по пищевым цепям, вызывая отравления людей (амнезийное отравление моллюсками или ASP), а также массовую гибель морских животных [Trainer et al., 2012; Lelong et al., 2012; Bates et al., 2018]. Изучение видового состава и плотности токсичного фитопланктона, а также содержания фикотоксинов в микроводорослях необходимо на особо охраняемых природных территориях России (ООПТ), к числу которых относится Дальневосточный морской заповедник (ДВМЗ). Для данного района актуальна задача сохранения биологического разнообразия [Dolganov, Tyurin, 2014]. Вблизи ДВМЗ располагаются хозяйства марикультуры и объекты рекреации, для которых особенно важны исследования планктона. По данным выполненных ранее многолетних исследований фитопланктона зал. Петра Великого Японского моря, в ДВМЗ были отмечены 4 вида *Pseudo-nitzschia* [Orlova et al., 2000; Stonik et al., 2011]. Однако данные о плотности клеток диатомовых водорослей рода *Pseudo-nitzschia* из ДВМЗ и содержания в них ДК в научной литературе отсутствуют.

---

\* Сведения об авторах: Стоник Инна Валентиновна, канд. биол. наук, снс, e-mail: innast2004@mail.ru; Зинов Антон Андреевич, инж. e-mail: toni.zinov.95@mail.ru; Цурпало Александра Петровна, канд. биол. наук, снс, e-mail: tsurpalo@mail.ru; все авторы — сотрудники ННЦМБ ДВО РАН.

Цель настоящей работы – изучение видового состава и плотности клеток диатомей рода *Pseudo-nitzschia* в летнем планктоне ДВМЗ на основе световой микроскопии и электронно-микроскопического анализа многолетних сборов.

*Материал и методы.* Материалом послужили батометрические сборы фитопланктона, выполненные на 11 станциях в ДВМЗ в летний период 1996–2015 годов (Рис. 1, Табл. 1).

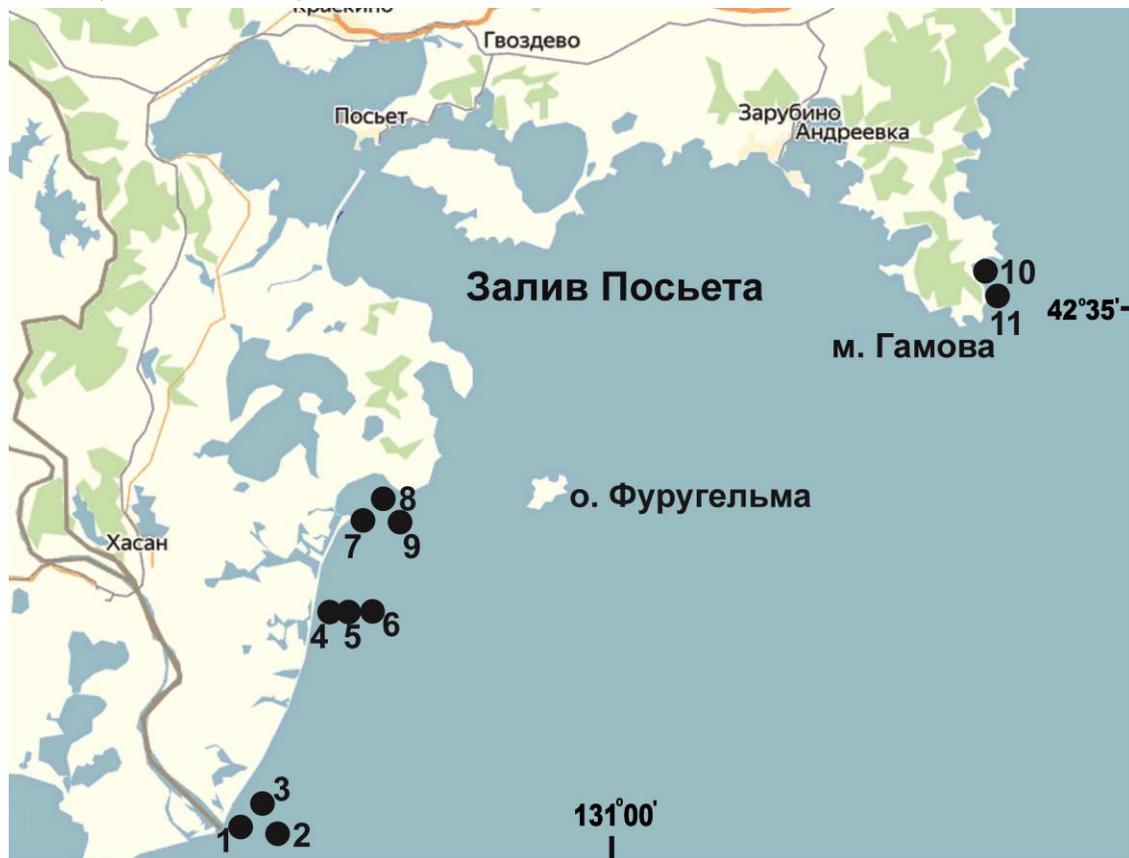


Рисунок 1. Карта-схема расположения станций (1-11) в районе исследования.

Figure 1. Schematic map of the sampling stations (1-11) location in the study area.

Пробы объёмом 1 л из поверхностного слоя воды фиксировали раствором Утермеля и концентрировали методом осаждения и/или обратной фильтрации через нуклеопоровые фильтры с диаметром пор 2 мкм [Федоров, 1979]. Плотность клеток подсчитывали в счётной камере (Sedgewick-Rafter) объёмом 1 мл [Andersen, Throndsen, 2003]. Под плотностью фитопланктона понимали число клеток в литре воды. Изучение морфологии диатомей проводили с помощью светового микроскопа (СМ) Olympus BX-41 в течение 2–3 месяцев после отбора проб, а также трансмиссионного электронного микроскопа (ТЭМ, JEM-100 S). Плотность клеток определяли с помощью СМ. При подготовке материала к изучению в ТЭМ использовали стандартную методику очистки панцирей, включающую воздействие кислот и центрифугирование с дистиллированной

водой [Hasle, Fryxell, 1970]. Каплю отмытой пробы наносили на бленды с формваром и высушивали на воздухе. На основе методов электронной микроскопии были определены основные размерные характеристики панцирей (проводили измерения 10 экземпляров каждого вида).

**Таблица 1. Номера станций и их координаты, даты отбора проб и количество проб фитопланктона, собранных в ДВМЗ**

**Table 1. Number and location of the sampling stations, sampling date, and number of samples collected from the Far Eastern Marine Reserve**

Номер станции	Координаты станций		Дата сбора проб	Количество проб
	Широта, с. ш.	Долгота, в. д.		
1	42°18'	130°44'	02.07.2003	1
2	42°17'	130°47'	25.08.1997	1
3	42°19'	130°46'	31.07.2003	1
4	42°26'	130°50'	02.07–01.08.2003	2
5	42°26'	130°51'	02.07.2003	1
6	42°26'	130°52'	12.07–29.08.1996	2
7	42°28'	130°48'	27.07–25.08.1996	4
8	42°28'	130°54'	02.07.2003, 03.08.2006	2
9	42°32'	130°51'	25.08.1997, 10.07–27.08.2010	9
10	42°36'	131°12'	30.07–14.08.2012	3
11	42°35'	131°14'	17.07–04.09.2015	6

Содержание ДК в лабораторной культуре *P. delicatissima*, изолированной 30 июля 2012 г. из б. Астафьева (станция 10), измеряли методом конкурентного иммуноферментного анализа с помощью набора реагентов ASP direct cELISA kit в соответствии с рекомендациями производителя. Измерения оптической плотности растворов выполняли с помощью микропланшетного фотометра (ридера) El 800G (США) с фильтром 450 нм.

*Результаты и обсуждение.* На основе данных световой и электронной микроскопии в ДВМЗ обнаружено 6 видов рода *Pseudo-nitzschia* (Табл. 2). Виды *P. delicatissima* и *P. hasleana* впервые найдены в районе исследования.

Ниже мы приводим описания их морфологии, сведения о распространении, плотности клеток (Табл. 2) и размерные характеристики (Табл. 3).

***Pseudo-nitzschia delicatissima* (P.T. Cleve) Heiden in Heiden, Kolbe, 1928 (Рис. 2А–Г)**

Створки узкие линейные (Рис. 2А). Штрихи створки состоят из двух рядов треугольных или неправильной формы ареол (Рис. 2Б–Г). Шов посередине прерван центральным узелком (Рис. 2Г). Велум типа гимен перфорирован мелкими отверстиями (Рис. 2Г). Цингулом состоит из трёх копул. Штрихи вальвокопулы из одной ареолы (Рис. 2В). Плотность штрихов вальвокопулы 40–54 в 10 мкм. Вторая копула разделена продольным ребром на две перфорированные половины. Третья копула не перфорирована (Рис. 2В).

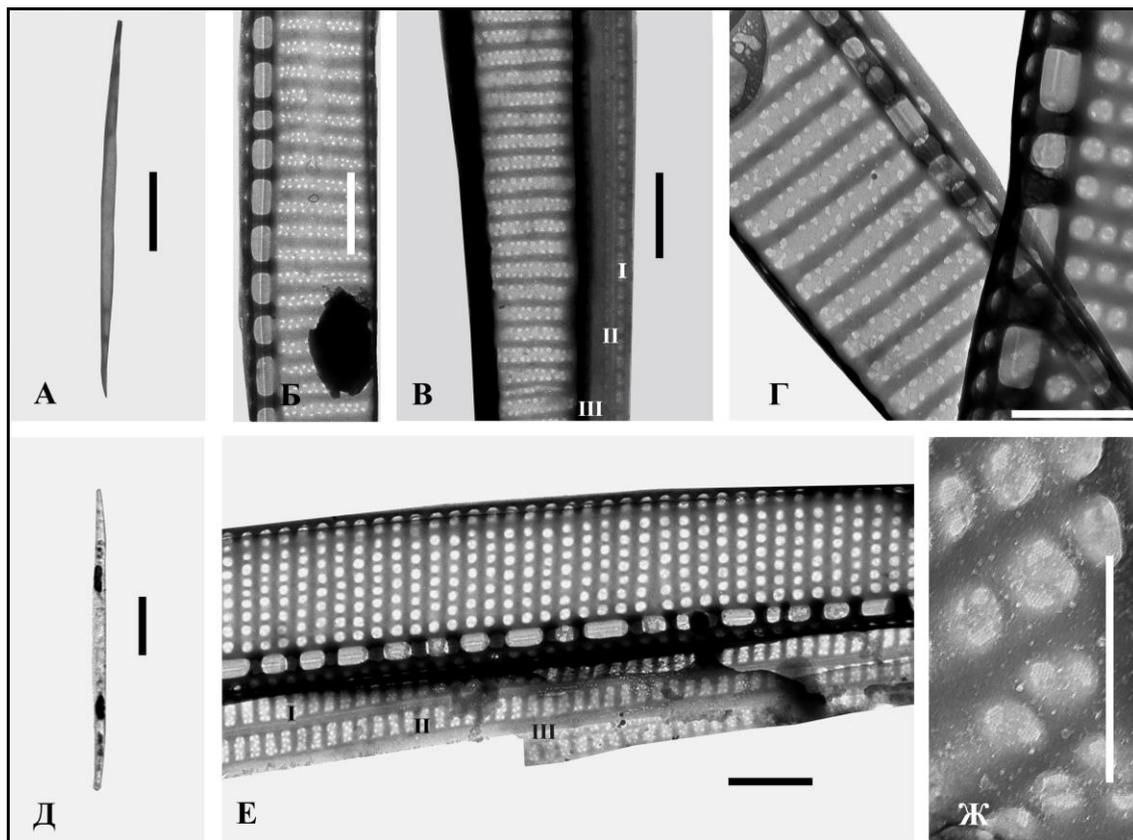


Рисунок 2: (А–Г) — морфология *P. delicatissima* и (Д–Ж) — *P. hasleana*; А – общий вид клетки; Б — фрагмент створки, показывающий фибулы и штрихи; В — фрагмент створки и структура вальвокупулы (I), второго (II) и третьего (III) поясковых ободков; Г — фрагменты створки *P. delicatissima* (слева) и *P. hasleana* (справа); Д — общий вид клетки; Е — фрагмент створки, показывающий фибулы и штрихи, и структура вальвокупулы (I), второго (II) и третьего (III) поясковых ободков; Ж — структура велума ареол створки. А, Д — СМ; Б–Г, Е, Ж — ТЭМ; масштаб: А, Д – 10 мкм; Б–Г, Е – 1 мкм; Ж– 0,5 мкм.

Figure 2: The morphology of *P. delicatissima* (А–Г) and *P. hasleana* (Д–Ж); А– general view of cell; Б – fragment of valve showing striae and fibulae, В– fragment of valve and structure of valvocupola (I), second (II), and third (III) girdle bands; Г – parts of valves of *P. delicatissima* (in the left) and *P. hasleana* (in the right); Д– general view of cell; Е– fragment of valve showing striae and fibulae, and structure of valvocupola (I), second (II), and third (III) girdle bands; Ж– structure of poroid hymen. А, Д – СМ; Б–Г, Е, Ж – ТЭМ. Scale: А, Д – 10  $\mu\text{m}$ ; Б–Г, Е – 1  $\mu\text{m}$ ; Ж– 0.5  $\mu\text{m}$ .

**Примечание:** наши экземпляры характеризуются большей плотностью фибул в 10 мкм ( $27 \pm 1,7$ ) по сравнению с данными, приведёнными в работах Лундхольм с соавторами ( $21,4 \pm 1,6$ ) [Lundholm et al., 2006] и Орив с соавторами ( $19,8 \pm 1,0$ ) [Orive et al., 2013].

**Распространение:** найден в Тихом океане, Северной Атлантике, Чёрном, Балтийском, Баренцевом, Беринговом, Японском и Охотском морях, у побережья Японии, Камчатки, Бразилии, Калифорнии, Гренландии, Швеции, Норвегии, Дании, Испании, Португалии, Новой Зеландии, Австралии, США, Канады; имеет космополитическое распространение [Hasle, 2002; Lundholm et al., 2006; Lelong et al., 2012; Вершинин и др., 2008]. В ДВМЗ вид часто отмечали на станциях 9–11.

**Содержание домоевой кислоты:** обнаружена в концентрации  $0,013 \pm 0,007$  пг·кл·л<sup>-1</sup> на 42 сутки содержания в непересеваемой культуре.

***Pseudo-nitzschia hasleana* Lundholm in Lundholm et al., 2012 (рис. 2Д–Ж)**

Створки узкие ланцетные (рис. 2Д). Штрихи створки состоят из одного ряда ареол округлой формы (рис. 2Е). Шов посередине прерван центральным узелком. Велум типа гимен разделён на 2–5 секторов (рис. 2Г, Ж), количество секторов варьирует на разных створках и даже в пределах одной створки. Гимен перфорирован мелкими отверстиями (рис. 2Ж).

Цингулум состоит из трёх копул. Штрихи вальвокопулы и второй копулы из 2 ареол в ширину и 3–4 пороидов в высоту; Плотность штрихов вальвокопулы 39–40 в 10 мкм. Штрихи третьей копулы из 1–2 ареол в высоту (рис. 2Е).

*Примечание:* Морфология наших экземпляров полностью согласуется с данными, приведёнными в работах других авторов [Lundholm et al., 2012; Ajani et al., 2013].

*Распространение:* найден у побережья Дании, у тихоокеанского побережья США, у берегов Японии и Австралии (Lundholm et al., 2012; Ajani et al., 2013), по-видимому, аркто-бореально-тропический вид. В ДВМЗ отмечен только на станции 10, где доминировал совместно с *P. delicatissima*. Обнаружение *P. hasleana* в ДВМЗ позволяет дополнить немногочисленные сведения о его нахождении в Тихом океане у берегов Японии и Австралии [Lundholm et al., 2012; Ajani et al., 2013].

**Таблица 2. Видовой состав представителей рода *Pseudo-nitzschia*, найденных в ДВМЗ**

Table 2. *Pseudo-nitzschia* species found from the Far Eastern Marine Biosphere Reserve

Вид	Номера станций	Концентрация ДК, (пг·кл <sup>-1</sup> )	Максимальная плотность, тыс. кл·л <sup>-1</sup>	Литературный источник
<i>P. calliantha</i> Lundholm, Moestrup et Hasle	1–9	–	5,6	Stonik et al., 2011
<b><i>P. hasleana</i> Lundholm</b>	10	–	3,2	Настоящая работа
<b><i>P. delicatissima</i> (Cleve) Heiden</b>	9–11	0,013±0,007*	2,5	Настоящая работа
<i>P. fraudulenta</i> (Cleve) Hasle	2, 6, 7	–	1,2	Stonik et al., 2011
<i>P. multistriata</i> (Takano) Takano	8	–	0,8	Stonik et al., 2011
<i>P. pungens</i> (Grunow ex Cleve) Hasle	1–9	–	2,9	Stonik et al., 2011

Примечание: жирным шрифтом выделены виды, впервые найденные в ДВМЗ; \* — концентрация в лабораторной культуре; “–” данные отсутствуют.

Все найденные нами виды, за исключением *P. hasleana*, известны как космополиты и возможные продуценты ДК, вызывающие цветения воды при концентрациях свыше 10<sup>5</sup> кл·л<sup>-1</sup> преимущественно у западного побережья континентов в зонах апвеллингов и вихревых циркуляций вод, где происходит накопление клеток токсичных диатомей [Hasle 2002; Trainer et al., 2012]. Виды *P. calliantha* и *P. pungens* широко распространены в дальневосточных морях России и в Чёрном море, где в отдельные сезоны на некоторых акваториях их плотность может достигать более 10<sup>5</sup> кл·л<sup>-1</sup> [Коновалова, 1992; Рябушко, 2003; Рябушко и др., 2008; Besiktepe et al., 2008; Stonik, Orlova, 2018]. Вид *P. pungens* отмечен также в Балтийском море, а *P. calliantha* – в Белом и Баренцевом морях [Вершинин и др. 2008].

Таблица 3. Размерные характеристики клеток видов рода *Pseudo-nitzschia*, впервые найденных в ДВМЗ

Table 3. Cell dimensions of *Pseudo-nitzschia* cells first registered in the Far Eastern Marine Reserve

Вид	Ширина створки, мкм	Плотность фибул в 10 мкм	Плотность штрихов в 10 мкм	Плотность ареол в 10 мкм	Плотность штрихов вальвокопулы в 10 мкм	Литературный источник
<i>P. delicatissima</i>	<u>1,5–1,7</u> 1,6±0,04	<u>24–32</u> 27±1,7	<u>36–42</u> 40,4±1,6	<u>9–14</u> 11,8±0,8	<u>40–54</u> 45,3±4,4	Настоящая работа
	<u>1,5–2,0</u> 1,8±0,2	<u>19–26</u> 21,4±1,6	<u>35–40</u> 36,8±1,5	<u>8–12</u> 10,1±1,2	<u>43–48</u> 44,2±1,6	Lundholm et al., 2006
	<u>1,7–2,0</u> 1,8±0,2	<u>19–21</u> 19,8±1,0	<u>33–37</u> 34,7±1,2	<u>8–12</u> 10,4±1,1	–	Orive et al., 2013
<i>P. hasleana</i>	<u>2–2,3</u> 2,1±0,1	<u>12–18</u> 15,6±1,1	<u>35–41</u> 38,4±1,1	<u>5–6</u> 5,5±0,3	<u>39–40</u> 39,7±0,3	Настоящая работа
	<u>1,5–2,8</u> 2±0,4	<u>13–20</u> 16,3±1,6	<u>31–40</u> 35,4±2,1	<u>5–6</u> 5,3±0,5	<u>37–47</u> 42,4±2,3	Lundholm et al., 2012

Примечание: в числителе — диапазон изменений параметра, в знаменателе — среднее значение ± стандартное отклонение, “–” данные отсутствуют.

Установлено, что в ДВМЗ в летний период плотность клеток *Pseudo-nitzschia* изменялась от 0,8 до 5,6 тыс. кл·л<sup>-1</sup> (табл. 2). Наиболее многочисленными (плотность более 2·10<sup>3</sup> кл·л<sup>-1</sup>) оказались *P. calliantha*, *P. delicatissima*, *P. hasleana*, *P. pungens*. Установленная нами внутриклеточная концентрация ДК в культуре *P. delicatissima* (0,013±0,007 пг·кл·л<sup>-1</sup>) находилась в пределах изменений этого показателя токсичности (0,005–0,12 пг·кл·л<sup>-1</sup>) для клонов вида из прибрежных вод Канады и Новой Зеландии [Trainer et al., 2012]. Однако плотность клеток *P. delicatissima*, как и других видов рода, оказалась существенно ниже концентраций (10<sup>4</sup>–10<sup>5</sup> кл·л<sup>-1</sup>), при которых в странах с развитой марикультурой вводятся ограничения на запрет и добычу моллюсков [Andersen, 1996]. Эти данные указывают на отсутствие опасности возникновения случаев отравления домоевой кислотой в ДВМЗ в летний период. Однако, учитывая тенденцию к повышению плотности клеток токсичных видов диатомей и увеличению содержания в них ДК, отмеченную в других районах зал. Петра Великого в осенне-зимний период [Stonik et al., 2019], рекомендуется мониторинг этой группы микроводорослей планктона в указанные сезоны в ДВМЗ.

**Выводы.** В акватории ДВМЗ обнаружено 6 видов рода *Pseudo-nitzschia*, для одного из которых *P. delicatissima* установлено наличие ДК в лабораторной культуре. Наиболее многочисленные виды (плотность более 2·10<sup>3</sup> кл·л<sup>-1</sup>) — *P. calliantha*, *P. delicatissima*, *P. hasleana* и *P. pungens*. Однако плотность клеток указанных видов *Pseudo-nitzschia* в период наших исследований оказалась существенно ниже значений, известных по литературным данным, характерных для цветений, и пороговых концентраций, при которых в странах с развитой марикультурой вводят запрет на добычу моллюсков, что указывает на отсутствие опасности возникновения случаев отравления ДК в ДВМЗ в летний период.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы “Дальний Восток” № 18-5-074.

## Литература

- Вершинин А. О., Орлова Т. Ю. Токсичные и вредные водоросли в прибрежных водах России // Океанология. 2008. Т. 48, № 4. С. 568–582.
- Коновалова Г. В. “Красные приливы“ в дальневосточных морях России и прилегающих акваториях Тихого океана (обзор), Альгология. 1992. Т. 2, № 4. С. 87–93.
- Рябушко Л. И. Потенциально опасные микроводоросли Азово-Черноморского бассейна / Институт биологии южных морей им. А. О. Ковалевского НАН Украины. – Севастополь. ЭКОСИ-Гидрофизика, 2003. 288 с.
- Рябушко Л. И., Бесиктепе С., Едигер Д., Илмаз Д., Зенгинер А., Рябушко В. И., Ли Р. И. Токсичная диатомовая водоросль *Pseudo-nitzschia calliantha* Lundholm, Moestrup et Hasle из Черного моря: морфология, таксономия, экология // Морской экологический журнал. 2008. Т. 7, № 3. С. 51–60.
- Федоров В. Д. О методах изучения фитопланктона и его активности. – Москва: Изд-во МГУ, 1979. 168 с.
- Andersen P., Design and implementation of some harmful algal monitoring systems, IOC Techn. Ser. – Paris: UNESCO Publishing, 1996. Vol. 44. 102 p.
- Andersen P., Throndsen J. Estimating cell numbers // eds. G. M. Hallegraeff, D. M. Anderson, and A. D. Cembella. Manual on harmful marine microalgae. – Paris: UNESCO Publishing, 2003. P. 99–129.
- АОАС, Official Methods of Analysis of AOAC. International, 19th edition / ed. Latimer G. W. Jr. – Gaithersburg, MD USA: 2012. Official Method 02.
- Ajani, P., Murray, S., Hallegraeff, G., Brett S., Armand L. First reports of *Pseudo-nitzschia micropora* and *P. hasleana* (Bacillariaceae) from the Southern Hemisphere: morphological, molecular and toxicological characterization // Phycological Research, 2013. Vol. 61. P. 237–248.
- Bates S. S., Hubbard K. A., Lundholm N., Montresor M, Leaw C. P. *Pseudo-nitzschia*, *Nitzschia*, and domoic acid: new research since 2011 // Harmful Algae. 2018. Vol. 79. P. 3–43.
- Besiktepe S., Ryabushko L., Ediger D., Yilmaz D., Zenginer A., Ryabushko V., Lee R. Domoic acid production by *Pseudo-nitzschia calliantha* Lundholm, Moestrup et Hasle (Bacillariophyta) isolated from the Black Sea // Harmful Algae. 2008. Vol. 7. P. 438–442.
- Dolganov S. M., Tyurin A. N. Far Eastern Marine Biosphere Reserve (Russia) // Биота и среда заповедников Дальнего Востока. 2014. № 2. P. 76–87.
- Hasle G. R. Are most of the domoic acid-producing species of the diatom genus *Pseudo-nitzschia* cosmopolites? // Harmful Algae. 2002. Vol. 1. P. 137–146.
- Hasle G. R., Fryxell G. Diatoms: cleaning and mounting for light and electron microscopy // Transactions of the American Microscopical Society. 1970. Vol. 89. P. 469–474.
- Heiden H., Kolbe R. W. Die marinen Diatomeen der Deutschen Südpolar-Expedition 1901–3 // Deutsche Südpolar-Expedition. 1928. Vol. 8. P. 450–715.
- Lelong A., Hégaret H., Soudant P., Bates S. S. *Pseudo-nitzschia* (Bacillariophyceae) species, domoic acid and amnesic shellfish poisoning: revisiting previous paradigms // Phycologia. 2012. Vol. 51. P. 168–216.
- Lundholm, N., Moestrup, Ø., Kotaki, Y., Hoef-Emden K., Scholin C., Miller P. Inter and intraspecific variation of the *Pseudo-nitzschia delicatissima* complex (Bacillariophyceae) illustrated by rRNA probes, morphological data and phylogenetic analyses // J. Phycol. 2006. Vol. 42. P. 464–481.
- Lundholm N., Bates S. S., Baugh K. A., Bill B., Connell L., Leger C., Trainer V. L. Cryptic and pseudo-cryptic diversity in diatoms – with descriptions of *Pseudo-nitzschia hasleana* sp. nov. and *P. fryxelliana* sp. nov. // J. Phycol. 2012. Vol. 48. P. 436–454.
- Orive E., Perez-Aicua L., David H., Garcia-Etxebarria K., Laza-Martinez A., Seoane S., Miguel I. The genus *Pseudo-nitzschia* (Bacillariophyceae) in a temperate estuary with description of two new species: *Pseudo-nitzschia plurisecta* sp. nov. and *Pseudo-nitzschia abrensis* sp. nov. // J. Phycol., 2013. Vol. 49. P. 1192–1206.

- Orlova T. Yu., Selina M. S., Stonik I. V. Phytoplankton of mouth of the Amur River and adjacent waters, Peter the Great bay // Ecological condition and biota of southwest part of the Peter the Great Bay and mouth of the Tumannaya River. Vol. 1. / eds. V. L. Kasyanov, M. A. Vashenko, D. L. Pytruk. – Vladivostok. Dalnauka. 2000. P. 129–146.
- Stonik I. V., Orlova T. Yu., Lundholm N., Diversity of *Pseudo-nitzschia* H. Peragallo from the western North Pacific // Diatom Research. 2011. Vol. 26. P. 121–134.
- Stonik I. V., Orlova T. Yu., Chikalovets I. V. et al. *Pseudo-nitzschia* species (Bacillariophyceae) and the domoic acid concentration in *Pseudo-nitzschia* cultures and bivalves from the northwestern Sea of Japan, Russia // Nova Hedwigia. 2019. Vol. 108. P. 73–93.
- Stonik I. V., Orlova T. Yu. Domoic Acid-Producing Diatoms of the Genus *Pseudo-nitzschia* H. Peragallo, 1900 (Bacillariophyta) from the North Pacific // Russian Journal of Marine Biology, 2018. Vol. 44. Issue 5. P. 347–354.
- Trainer V. L., Bates S. S., Lundholm N. et al., *Pseudo-nitzschia* physiological ecology, phylogeny, toxicity, monitoring and impacts on ecosystem health // Harmful Algae. 2012. Vol. 14. P. 271–300.

## Species composition and density of the potentially toxic diatoms belonging to the genus *Pseudo-nitzschia* (Bacillariophyta) from the summer plankton of Far Eastern Marine Reserve

I. V. Stonik, A. A. Zinov, A. P. Tsurpalo

*National Scientific Center of Marine Biology, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences  
Vladivostok, 690041, Russian Federation*

### Abstract

Species composition and density of the diatom belonging to the genus *Pseudo-nitzschia* found in summer plankton of Far Eastern Marine Biosphere Reserve were studied. Six species including 5 potentially toxic species were found. *P. delicatissima* and *P. hasleana* were new records for the study area. Density of *Pseudo-nitzschia* spp. varied from 0.8 to 5.6  $10^3$  cells·l<sup>-1</sup>. *P. calliantha*, *P. delicatissima*, *P. hasleana*, *P. pungens* were the most numerous species (more than  $2 \cdot 10^3$ ·l<sup>-1</sup>). Domoic acid (0.013 pg · cell<sup>-1</sup>) was found in 42-day culture of *P. delicatissima*. The relatively low concentrations of potentially toxic diatoms revealed that there is no danger of domoic acid poisoning in Far Eastern Marine Biosphere Reserve in summer.

**Key words:** Diatoms, *Pseudo-nitzschia*, domoic acid, Far Eastern Marine Reserve, Sea of Japan.

### References

- Ajani, P., Murray, S., Hallegraeff, G., Brett, S., Armand L. et al., 2013, First reports of *Pseudo-nitzschia micropora* and *P. hasleana* (Bacillariaceae) from the Southern Hemisphere: morphological, molecular and toxicological characterization, *Phycol. Res.*, vol. 61, pp. 237–248.
- Andersen P., Throndsen J., 2004, *Estimating cell numbers*, in G. M. Hallegraeff, D. M. Anderson, and A.D. Cembella, Eds., *Manual on harmful marine microalgae*, pp. 99–129, UNESCO Publishing, Paris.
- Andersen, P., 1996, Design and implementation of some harmful algal monitoring systems, IOC Techn. Ser. UNESCO, Paris. vol. 44, 102 p.
- Bates S. S., Hubbard K. A., Lundholm N., Montresor M., Leaw C. P., 2018, *Pseudo-nitzschia*, *Nitzschia*, and domoic acid: new research since 2011, *Harmful Algae*, vol. 79, pp. 3–43.
- Besiktepe S., Ryabushko L., Ediger D., Yilmaz D., Zenginer A., Ryabushko V., Lee R., 2008, Domoic acid production by *Pseudo-nitzschia calliantha* Lundholm, Moestrup et Hasle (Bacillariophyta) isolated from the Black Sea, *Harmful Algae*, vol. 7, pp. 438–442.
- Dolganov S. M., Tyurin A. N., 2014, Far Eastern Marine Biosphere Reserve (Russia), *Biodiversity and Environment of Far East Reserves*, no. 2. pp. 76–87.

- Fedorov V. D., 1979, O metodakh izucheniya fitoplanktona i yego aktivnosti [On methods of studies of phytoplankton and its activity]. 168 p., Moscow State University Publishers, Moscow (in Russ.).
- George W. Latimer (ed.) AOAC, 2012, Official Methods of Analysis of AOAC. International, 19th ed., Gaithersburg, MD USA, Official Method 02.
- Hasle G. R. 2002, Are most of the domoic acid-producing species of the diatom genus *Pseudo-nitzschia* cosmopolites? *Harmful Algae*, vol. 1, pp. 137–146.
- Hasle G. R., Fryxell G., 1970, Diatoms: cleaning and mounting for light and electron microscopy, *Transactions of the American Microscopical Society*, vol. 89, pp. 469–474.
- Heiden H., Kolbe R. W., 1928, Die marinen Diatomeen der Deutschen Südpolar-Expedition 1901–3, *Deutsche Südpolar-Expedition*, vol. 8, pp. 447–715.
- Konovalova G. V. 1992, “Krasnyye prilivy” v dal'nevostochnykh moryakh Rossii i prilegayushchikh akvatoriyakh Tikhogo okeana (obzor) [“Red tides” in the Far Eastern seas of Russia and adjacent waters of the Pacific Ocean (Review)], *Al'gologiya*, vol. 2, no. 4. pp. 87–93. (in Russ.)
- Lelong A., Hégarret H., Soudant P., Bates S. S., 2012, *Pseudo-nitzschia* (Bacillariophyceae) species, domoic acid and amnesic shellfish poisoning: revisiting previous paradigms, *Phycologia*, vol. 51, pp. 168–216.
- Lundholm N., Bates S.S., Baugh K.A., Bill B., Connell L., Leger C., Trainer V.L., 2012. Cryptic and pseudo-cryptic diversity in diatoms – with descriptions of *Pseudo-nitzschia hasleana* sp. nov. and *P. fryxelliana* sp. nov. – *J. Phycol.*, vol. 48, pp. 436–454.
- Lundholm, N., Moestrup, Ø., Kotaki, Y., Hoef-Emden K., Scholin C., Miller P., 2006. Inter- and intraspecific variation of the *Pseudo-nitzschia delicatissima* complex (Bacillariophyceae) illustrated by rRNA probes, morphological data and phylogenetic analyses, *J. Phycol.*, vol. 42, pp. 464–481.
- Orive E., Perez-Aicua L., David H., Garcia-Etxebarria K., Laza-Martinez A., Seoane S., Miguel I., 2013. The genus *Pseudo-nitzschia* (Bacillariophyceae) in a temperate estuary with description of two new species: *Pseudo-nitzschia plurisecta* sp.nov. and *Pseudo-nitzschia abrensis* sp. nov. *J. Phycol.*, vol. 49, pp. 1192–1206.
- Orlova T. Yu., Selina M. S., Stonik I. V., 2000, Phytoplankton of mouth of the Amur River and adjacent waters, Peter the Great bay, in V. L. Kasyanov, M. A. Vashenko, D. L. Pytruk (eds.), Ecological condition and biota of southwest part of the Peter the Great Bay and mouth of the Tumannaya River, vol. 1, pp. 129–146, Dalnauka, Vladivostok.
- Ryabushko L. I., 2003, *Potentsial'no opasnyye mikrovdorosli Azovo-Chernomorskogo basseyna* [Potentially harmful microalgae of the Azov and Black sea basin], V. I. Ryabushko (ed.), 288 p., EKOSI-Gidrofizica, Sevastopol. (in Russ.)
- Ryabushko L. I., Besiktepe S., Ediger D., Yilmaz D., Zenginer A., Ryabushko V. I., Lee R. I., 2008, Toxic diatom of *Pseudo-nitzschia calliantha* Lundholm, Moestrup et Hasle from the Black Sea: morphology, taxonomy, ecology, *Marine ecological journal*, vol. 7, no 3, pp. 51–60. (in Russ.)
- Stonik I. V., Orlova T. Yu., 2018, Domoic Acid-Producing Diatoms of the Genus *Pseudo-nitzschia* H. Peragallo, 1900 (Bacillariophyta) from the North Pacific, *Russian Journal of Marine Biology*, vol. 44, issue 5, pp. 347–354.
- Stonik I. V., Orlova T. Yu., Chikalovets I. V., Aizdaicher N. A., Aleksanin A. I., Kachur V. et al., 2019, *Pseudo-nitzschia* species (Bacillariophyceae) and the domoic acid concentration in *Pseudo-nitzschia* cultures and bivalves from the northwestern Sea of Japan, Russia, *Nova Hedwigia*, vol. 108, pp. 73–93.
- Stonik I. V., Orlova T. Yu., Lundholm N., 2011, Diversity of *Pseudo-nitzschia* H. Peragallo from the western North Pacific, *Diatom Research*, vol. 26, pp. 121–134.
- Trainer V. L., Bates S. S., Lundholm N., Thessen A. E., Cochlan W. P., Adams N. G., 2012, *Pseudo-nitzschia* physiological ecology, phylogeny, toxicity, monitoring and impacts on ecosystem health, *Harmful Algae*, vol. 14, pp. 271–300.
- Vershinin A. O., Orlova T. Yu., 2008, Toksichnyye i vrednyye vodorosli v pribrezhnykh vodakh Rossii [Toxic and harmful algae in the coastal waters of Russia], *Oceanology*, vol. 48, no. 4, pp. 524–537.