



УДК 574.633.087:582.26/.27

## ПРОСТОЙ МЕТОД ПОДГОТОВКИ ПОСТОЯННЫХ ПРЕПАРАТОВ ДИАТОМОВЫХ И ОЦЕНКА ОБИЛИЯ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ В ЦЕЛЯХ БИОИНДИКАЦИИ

© 2018 С. С. Барина

*Институт эволюции, Университет Хайфы, Хайфа 3498838, Израиль*  
*E-mail: sophia@evo.haifa.ac.il*

**Аннотация.** В статье рассматриваются проблемы, возникающие при оценках обилия микроводорослей, и пути их решения. Приведены сведения о системах количественной оценки клеток водорослей. На основе полученного опыта составлена сводная таблица для пересчета численности клеток в водорослевых сообществах из одной системы в другую. В целях унификации количественных оценок приведены аргументы в пользу совместного использования количественных подсчетов клеток как во временных (сырых) препаратах из пробы собранного сообщества, включающих оценку обилия каждого вида недиаatomовых водорослей, так и в постоянных препаратах диатомовых водорослей из той же пробы. Дано детальное описание простого перекисного метода подготовки постоянных препаратов диатомовых водорослей так, чтобы оценки обилия клеток в сырых и постоянных препаратах могли быть использованы в единой шкале. Приводятся различные шкалы оценок обилия клеток водорослей как подход для унификации результатов подсчетов, пригодных для биоиндикации в полном сообществе, включающем недиаatomовые и диатомовые водоросли. Подход и метод могут быть использованы альгологами, экологами, специалистами по принятию решений, которым доступны материалы прошлых лет мониторинга на водных объектах.

**Ключевые слова:** водоросли, численность, количественные методы, постоянные препараты, методика

## A SIMPLE METHOD FOR PREPARING PERMANENT DIATOM SLIDES AND ASSESSING THE ABUNDANCE OF MICROALGAE FOR BIOINDICATION

S. S. Barinova

*Institute of Evolution, University of Haifa, Haifa 3498838, Israel*  
*E-mail: sophia@evo.haifa.ac.il*

**Abstract.** Problems that arise when assessing the abundance of microalgae and ways to solve them are considered. Information on quantification systems for algae cells is given. Based on the experience gained, a summary table was compiled for recalculating the number of cells in algal communities from one system to another. In order to

unify quantitative estimates, arguments are presented in favor of sharing quantitative cell counts in both temporary (raw) preparations from a sample of the collected community, including an assessment of the abundance of each species of non-diatom algae, and in permanent slides of diatoms from the same sample. A detailed description of a simple peroxide method of preparing permanent diatom slides is given so that the estimates of the abundance of cells in the raw and permanent slides can be used in a unified scale. Various scales for assessing the abundance of algae cells are presented as an approach for unifying the results of calculations suitable for bioindication in the entire community, including non-diatom and diatom algae. The approach and method can be used by algologists, ecologists, decision-makers who have access to materials from past years of monitoring in water bodies.

**Keywords:** algae, abundance, quantitative methods, permanent slides, methodology

## ВВЕДЕНИЕ

В пресноводных объектах оценка загрязнения представляет собой сложную систему задач и методов их решения, как, например, обобщение информации об окружающей среде и биоте, которая может быть классифицирована для оценки воздействия загрязнения, для оценки взаимного влияния разнообразия пресноводных водорослей, которые развиваются в изучаемом сообществе, а также среды их обитания. Основой этого принципа является соответствие экологии вида-индикатора и параметров его местообитания, классификация которых может представлять собой континуальную унифицированную систему [1, 2]. Поскольку современные системы биоиндикации основаны на расчетах показателей загрязнения, мы должны уделять больше внимания определению обилия при каждом подсчете видов. Известно несколько систем и методов оценки обилия видов в пробах для различных целей [1, 3–8].

### 1. Подготовка проб водорослей для последующей биоиндикационной оценки

Сообщество водорослей обычно изучается в образце фитопланктона или фитоперифитона при отборе из природных или экспериментальных местообитаний. Основная задача биоиндикации заключается в том, чтобы включить в анализ максимальный видовой состав из проб водорослей. Несколько методов обработки проб являются неприемлемыми при определении видов водорослей, такие как фиксирование раствором Люголя, который окрашивает клетки водорослей в оранжевый цвет, и маскируют некоторые важные свойства для определения видов.

Другой проблемой является подготовка различных групп недиатомовых и диатомовых водорослей различными методами. Например, пробу водорослей из природного местообитания обычно делят на две части: в одной части идентифицируют мягкие

водоросли из одной капли образца под световым микроскопом, а другая часть пробы подвергается обработке кислотным или перекисным методом для очистки от органики. Благодаря этим методам можно получить препараты водорослей для оценки численности видов, но по разным системам. Таким образом, мягкие водоросли обычно учитываются в системах оценки (5–11 баллов), а виды диатомовых водорослей определяются с помощью микроскопов высокого разрешения и СЭМ (сканирующий электронный микроскоп) и считаются отдельно в процентах от численности каждого вида, поскольку обработанные створки уже не представляют обилие в общей пробе. Несмотря на то, что препараты подготовлены из одного и того же природного сообщества, мы не можем суммировать результаты обработки недиатомовых и диатомовых в этом случае, кроме как для списка видов. Это дает нам два пути использования выявленного видового состава при биоиндикационном анализе. Первый отличается ограничением оценки только по диатомовым водорослям. Т. е. из анализа исключается около половины имеющихся в сообществе видов (все недиатомовые и часть диатомовых) при таком способе биоиндикации. Однако, как мы отметили ранее, желательно, чтобы максимальное количество идентифицированных видов было представлено в оценке по биоиндикации. Этого возможно достичь при приготовлении препаратов диатомовых перекисным методом на стеклах (ниже), поскольку этот способ предоставляет возможность найти наиболее адекватный ответ сообщества водорослей на окружающую среду, из которой образец был взят, так как включает в биоиндикационную оценку весь выявленный видовой состав.

Вторая проблема — географическая широта места обитания, из которого был собран образец водорослей. На первый взгляд кажется, что это неважно, потому что водоросли в основном пред-

ставлены космополитными видами, но наш опыт биоиндикации в водных объектах на разных широтах Евразии продемонстрировал, что сообщества имеют заметную изменчивость состава в зависимости от широты места обитания [9–12]. Более того, в подавляющем большинстве систем оценки загрязнения разрабатываются индикационные показатели только для видов диатомовых водорослей. Конечно, эта группа хорошо изучена в отношении таксономии и морфологии, но для использования экологических показателей только диатомовых возникает проблема учета только половины видового состава, так как диатомовые водоросли хорошо представлены в водных сообществах бореальной зоны, где расположены европейские страны-разработчики биоиндикационных индексов. Когда же мы исследуем сообщества в более южных регионах, например, учитывая наш опыт в Украине, Турции, Пакистане, Индии или Израиле, мы сталкиваемся с тем фактом, что диатомовые водоросли представляют собой лишь относительно небольшую часть сообществ, а зеленые водоросли и цианобактерии являются более широко представленными [11, 13–15].

В целях улучшения оценки обилия видов из водорослевых сообществ для биоиндикации [16] представлен комбинированный метод подготовки препаратов, описанный нами кратко еще в 1988 г. [17, 18].

## **2. Комбинированный метод подготовки препаратов**

- а) Отобранная проба водорослей может быть в живом состоянии или фиксирована нейтральным раствором формальдегида около 2–4 %.
- б) Одна капля из пробы водорослей помещается на предметное стекло, покрывается покровным стеклом и исследуется под микроскопом с помощью соответствующей техники, такой как иммерсия. Определяются виды недиатомовых водорослей или некоторые диатомовые водоросли с крупными створками, и число клеток каждого вида подсчитывается с использованием процентных или количественных методов.
- в) Одну каплю из той же пробы помещают на покровное стекло. Покровное стекло с каплей образца кладут на плитку, нагретую до температуры около 100 °С, и вода из капли слегка испаряется до влажного состояния препарата на стекле. Затем к влажной капле на стекле понемногу добавляют концентрированную

(около 30 %) перекись водорода и постепенно выпаривают. Выпаривание и добавление перекиси водорода повторяют несколько раз. Качество очистки диатомовых створок от органических веществ проверяется под микроскопом. Обработка на одном стекле повторяется до тех пор, пока весь органический материал не растворится и раствор не испарится. Важно использовать только концентрированную перекись водорода для быстрой и качественной очистки створок. Продуктами распада органического вещества при обработке препарата в этом методе являются вода и углекислый газ, которые испаряются, не оставляя кристаллов на створках диатомовых в препарате.

- г) Покровное стекло с очищенными створками диатомовых водорослей переворачивают слоем створок вниз и помещают на предметное стекло в смолу для постоянных препаратов, например, Naphrax или канадский бальзам, предварительно разогретую на плитке до расплавления. Полученный постоянный препарат маркируется.
- д) Виды диатомовых водорослей определяют под микроскопом с помощью специальных методов и определителей.
- е) Оценка количества створок диатомовых водорослей может выполняться в обеих системах, в процентах и в баллах, но в обоих случаях система должна быть одинаковой для расчета обилия во временных и постоянных препаратах водорослей из той же пробы. В любом случае мы должны принять во внимание, что при термической обработке панцири диатомовых в постоянном препарате представляют, в большинстве случаев, только одну створку, поэтому результат подсчета диатомовых створок следует разделить на два, чтобы представить некоторую реальную численность клеток для видов одноклеточных диатомей в сообществе.
- ж) Оба результата определения и расчета для недиатомовых водорослей, а также из препаратов диатомей должны быть объединены в общий список для последующего анализа сообщества и расчетов индексов в целях биоиндикации.
- з) В результате появляется единый список видов, представляющих все отделы водорослей из изучаемого сообщества, с оценками обилия или процентного содержания каждого таксона,

который имеет отношение к естественной выборке сообщества (пробе водорослей). Обычно мы можем определить и оценить около 90 % клеток в препаратах. Это дает большие возможности для изучения численных пропорций видов в сообществе, а также для методов биоиндикации.

### 3. Унифицированная система оценки численности водорослей

Обилие водорослей (таблица) может быть оценено по шестибалльной шкале [1] и используется для расчета индексов сапробности по Сладечку [3]. Пятибалльная шкала [4] была применена для расчета EPI (Environmental Pollution Index) по Дель Умо [5]. Она также используется для вычисления процента створок диатомовых в обработанных

образцах, и этот метод очень распространен. Из таблицы следует, что все методы могут дать некоторую информацию о количестве клеток на площади стекла или в определенном объеме пробы. Это обобщенная рабочая таблица, созданная на основе нескольких достаточно широко используемых методов оценки частоты встречаемости видов и которую можно использовать для вновь рассчитанных и для ретроспективных данных, где даются разные оценки обилия. Теперь, если имеется некоторый расчет численности клеток каждого таксона для площади стекла, мы можем ориентировочно предположить количество клеток в объеме пробы, и наоборот. В нашей практике это может быть полезным для сравнения различных индексов и данных, полученных для планктонных и перифитонных проб.

Частота встречаемости (баллы), численность и обилие видов в комплексах водорослей по 5-балльной, 6-балльной и 9-балльной шкалам согласно [1] и [8]

Frequency of occurrence and abundance of species in algae complexes on 5-point, 6-point, and 9-point scales according to [1] and [8]

9-балльная 9-point [6]	6-балльная 6-point [7]	5-балльная 5-point [4]	Визуальная оценка Visual estimation [7]	Число клеток в литре, кл./дм <sup>3</sup> Number of cells in one dm <sup>3</sup> [8]	Число клеток в препарате (20 × 20 mm) Cell number per slide (20 × 20 mm) [7]	Количество клеток каждого вида, % Cell number of each species, %
1	1	1	единично occasional	1–10 <sup>3</sup>	1–5 кл. в препарате 1–5 cells per slide	< 1
2	2	2	редко rare	10 <sup>3</sup> –10 <sup>4</sup>	10–15 кл. в препарате 10–15 cells per slide	2–10
3	3	3	не редко common	10 <sup>4</sup> –10 <sup>5</sup>	25–30 кл. в препарате 25–30 cells per slide	10–40
5	4	4	часто frequent	10 <sup>5</sup> –10 <sup>7</sup>	1 клетка в каждом ряду 1 cell over a slide transect	40–60
7	5	4	очень часто very frequent	10 <sup>6</sup> –10 <sup>7</sup>	несколько клеток в ряду several cells over a slide transect	60–80
9	6	5	масса abundant	более 10 <sup>7</sup> over 10 <sup>7</sup>	в каждом поле зрения one or more cells in each field of view	80–100

Мы говорим о количестве клеток каждого вида, имея в виду разные методы подсчета. Так, частота может быть оценена как количество ценобиев или частей колонии, если организм колониальный. Однако подсчет частей может только помочь быстро подсчитать элементы, он не имеет отношения к оценке свойств экосистемы через индексы видового разнообразия, рассчитываемые на основании численности каждого таксона в сообществе. При использовании вышеприведенной таблицы мы можем оценить количество именно организмов, которое для водорослей в пресных водах является

численностью. Это особенно важно для расчета индексов Шеннона, поскольку его значения интерпретируются как отклик биотической части экосистемы, но разные подходы к вычислению индекса дают очень противоречивые данные.

Второй вопрос, который очень важен для понимания выбора метода для подсчета численности, заключается в том, как максимально использовать выявленное разнообразие водорослей в образцах. Индексы качества воды были в основном созданы в странах, которые располагаются в Бореальной области. Это означает, что сообщество водорослей

континентальных вод из водоемов этих климатических и биогеографических зон представлено в своем большинстве видами диатомовых водорослей. Бесспорно, биоиндикация и расчет индексов должны основываться на большей части сообщества, поэтому и предпринимается попытка определить и оценить все возможные варианты для этой цели. Однако проблемой является использование в биоиндикационных оценках только диатомовых водорослей, когда водоем находится в более южном регионе, как было указано выше. В целях максимального включения присутствующего видового состава в образце водорослей описан простой способ подготовки постоянных препаратов диатомовых для адекватного расчета численности совместно недиатомовых фиксированных и диатомовых водорослей с условием точного определения видов, что является основным требованием для последующего применения метода биоиндикации.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам обобщения нашего опыта представлена комбинация нового метода подготовки, включающего максимальное и адекватное содержание видов из естественной выборки сообщества для мягких и диатомовых водорослей, с новым подходом к оценке численности клеток водорослей. Этот метод подготовки может улучшить и упростить работу с многовидовыми и обильными сообществами микроскопических водорослей в целях биоиндикации. Таким образом, рекомендуемые Европейской водной рамочной директивой [19] и использованные UNEP/IPCS [20] методы биоиндикации в современных системах мониторинга могут быть обогащены и улучшены с применением более широкого видового состава сообщества водорослей. Теперь подсчеты видов-индикаторов загрязнения, рекомендуемые для оценки его воздействия, могут быть сделаны на основании не только диатомовых водорослей, но и других видов мягких водорослей, которые широко представлены в водных сообществах стран южных регионов Евразии.

Более того, оценка состояния водной экосистемы и качества воды с применением данных методов обработки препаратов и расчета численности клеток водорослей становится более широкой и простой. Большой процент видов сообщества может быть включен в расчет индексов загрязнения. Рассчитанные индексы и доленое участие видов всего сообщества используются совместно с

системой классификации с экологической точки зрения с гидрохимическими показателями. В реализации расширенной системы оценок мы имеем много положительных примеров ее применения для разнообразных водных экосистем Евразии [1, 2, 12–14, 21–24].

## БЛАГОДАРНОСТИ

Проект был частично поддержан Министерством Али и Интеграции Израиля.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Барина С.С., Медведева Л.А., Анисимова О.В. Биоразнообразие водорослей-индикаторов окружающей среды. Тель Авив: Pilies Studio Publisher, 2006. 498 с.
2. Barinova S. On the classification of water quality from an ecological point of view // *International Journal of Environmental Sciences & Natural Resources*. 2017. No. 2 (2). Pp. 1–8. doi: 10.19080/IJESNR.2017.02.55558.
3. Sládeček V. System of water quality from the biological point of view // *Archiv für Hydrobiologie — Beiheft: Ergebnisse der Limnologie*. 1973. No. 7. 218 p.
4. Use of algae for monitoring rivers. B.A. Whitton, E. Roth, G. Friedrich. (Eds.). Innsbruck: Institut für Botanik Universität Press, 1991. 196 p.
5. Dell'Uomo A. Assessment of water quality of an Apennine river as a pilot study for diatom-based monitoring of Italian watercourses // *Use of algae for monitoring rivers II*. B.A. Whitton, E. Roth. (Eds.). Innsbruck: Institut für Botanik Universität Press, 1996. Pp. 65–72.
6. Вислоух С.М. Биологический анализ воды // *Общая микробиология / Под ред. С.И. Златогорова, И.Л. Сербинова*. Петроград: Практическая медицина, 1916. С. 225–305.
7. Кордэ Н.В. Методика биологического изучения донных отложений озер (полевая работа и биологический анализ) // *Жизнь пресных вод СССР*. М., Л.: Изд-во АН СССР, 1956. Т. 4 (1). С. 383–413.
8. Кузьмин Г.В. Видовой состав фитопланктона водоемов зоны затопления Колымской ГЭС. Магадан: Изд-во Института Биологических проблем Севера, ДВНЦ АН СССР, 1985. 41 с.
9. Barinova S. Algal diversity dynamics, ecological assessment, and monitoring in the river ecosystems of the eastern Mediterranean. New York: Nova Science Publishers, 2011. 363 p.
10. Barinova S. The effect of altitude on distribution of freshwater algae in continental Israel // *Current Topics in Plant Biology*. 2011. No. 12. Pp. 89–95.
11. Barinova S., Krassilov V.A. Algal diversity and bioindication of water resources in Israel // *International*

- Journal of Environment and Resource. 2012. No. 1 (2). Pp. 62–72.
12. Barinova S., Gabyshev V., Gabysheva O. Climate impact of freshwater biodiversity: general patterns in extreme environments of North-Eastern Siberia (Russia) // *British Journal of Environment and Climate Change*. 2014. No. 4 (4). Pp. 423–443. doi: 10.9734/BJECC/2014/9530.
  13. Ghosh S., Barinova S., Keshri J.P. Diversity and seasonal variation of phytoplankton community in the Santragachi Lake, West Bengal, India // *QScience Connect*. 2012. No. 3. Pp. 1–19.
  14. Barinova S. The effect of altitude on distribution of freshwater algae in continental Israel // *Current Topics in Plant Biology*. 2011. No. 12. Pp. 89–95.
  15. Barinova S., Keshri J.P., Ghosh S., Sikdar J. The influence of the monsoon climate on phytoplankton in the Shibpukur pool of Shiva temple in Burdwan, West Bengal, India // *Limnological Review*. 2012. No. 2 (2). Pp. 47–63. doi: 10.2478/v10194-011-0044-y.
  16. Barinova S. Essential and practical bioindication methods and systems for the water quality assessment // *International Journal of Environmental Sciences & Natural Resources*. 2017. No. 2 (3). Pp. 1–11. doi: 10.19080/IJESNR.2017.02.555588.
  17. Баринава С.С. Полиморфизм соединительных структур диатомовых водорослей // Эволюционные исследования. Вавилонские темы. Владивосток: Изд-во ДВО АН СССР, 1988. С. 110–122.
  18. Barinova S. How to align and unify the cell counting of organisms for bioindication // *International Journal of Environmental Sciences and Natural Resources*. 2017. No. 2 (2). Pp. 555–585. doi: 10.19080/IJESNR.2017.02.555585.
  19. Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council establishing a framework for Community action in the field of water policy // *Official Journal of the European Communities*. 2000. No. 327. 72 p. URL: [http://ec.europa.eu/environment/water/water-framework/index\\_en.html](http://ec.europa.eu/environment/water/water-framework/index_en.html) (дата обращения 18.10.2018).
  20. UNEP/IPCS. Training module No. 3. Chemical risk assessment. Edinburgh: Edinburgh Centre for Toxicology Publ., 1999. 222 p.
  21. Barinova S.S., Tavassi M., Nevo E. Algal indicator system of environmental variables in the Hadera River basin, central Israel // *Plant Biosystems*. 2006. No. 140. Pp. 65–79. doi: 10.1080/11263500500507593.
  22. Barinova S.S., Tavassi M., Nevo E. Diversity and ecology of algae from Alexander River (Central Israel) // *Flora Mediterranea*. 2006. No. 16. Pp. 111–132.
  23. Barinova S. Systemic criteria for the analysis of alpha- and gamma-diversity of freshwater algae // *International Journal of Environmental Sciences & Natural Resources*. 2017. No. 4 (2). Pp. 555–633. doi: 10.19080/IJESNR.2017.04.555633
  24. Barinova S.S. Empirical model of the functioning of aquatic ecosystems // *International Journal of Oceanography and Aquaculture*. 2017. No. 1 (3). Pp. 1–9.

## REFERENCES

1. Barinova S.S., Medvedeva L.A., Anisimova O.V. Bioraznoobrazie vodorosley-indikatorov okruzhayushchey sredy [Biodiversity of algae — indicators of the environment]. Tel Aviv: Pilies Studio Publisher, 2006, 498 p. (In Russian).
2. Barinova S. On the classification of water quality from an ecological point of view. *International Journal of Environmental Sciences & Natural Resources*, 2017, no. 2 (2), pp. 1–8. doi: 10.19080/IJESNR.2017.02.555588.
3. Sládeček V. System of water quality from the biological point of view. *Archiv für Hydrobiologie — Beiheft: Ergebnisse der Limnologie*, 1973, no. 7, 218 p.
4. Use of algae for monitoring rivers. B.A. Whitton, E. Roth, G. Friedrich. (Eds.). Innsbruck: Institut für Botanik Universität Press, 1991, 196 p.
5. Dell'Uomo A. Assessment of water quality of an Apennine river as a pilot study for diatom-based monitoring of Italian watercourses. In: *Use of algae for monitoring rivers II*. B.A. Whitton, E. Roth. (Eds.). Innsbruck: Institut für Botanik Universität Press, 1996, pp. 65–72.
6. Visloukh S.M. Biologicheskii analiz vody [Biological analysis of water]. In: *Obshchaya mikrobiologiya [General microbiology]*. S.I. Zlatogorov, I.L. Serbinov. (Eds.). Petrograd: Prakticheskaya meditsina [Practical Medicine], 1916, pp. 225–305. (In Russian).
7. Korde N.V. Metodika biologicheskogo izucheniya donnykh otlozheniy ozer (polevaya rabota i biologicheskii analiz) [The methods of biological studies for the bottom deposits of lakes (the field methods of biological analysis)]. In: *Zhizn' presnykh vod SSSR [Life of fresh waters of the USSR]*. Moscow, Leningrad: AS of the USSR Publ., 1956, vol. 4 (1), pp. 383–413. (In Russian).
8. Kuz'min G.V. Vidovoy sostav fitoplanktona vodoemov zony zatopleniya Kolym'skoy GES [The species composition of phytoplankton in the flood zone of Kolyma hydroelectric station]. Magadan: IBPN FEB, AS of the USSR Publ., 1985, 41 p. (In Russian).
9. Barinova S. Algal diversity dynamics, ecological assessment, and monitoring in the river ecosystems of the eastern Mediterranean. New York: Nova Science Publishers, 2011, 363 p.
10. Barinova S. The effect of altitude on distribution of freshwater algae in continental Israel. *Current Topics in Plant Biology*, 2011, no. 12, pp. 89–95.
11. Barinova S., Krassilov V.A. Algal diversity and bioindication of water resources in Israel. *International*

- Journal of Environment and Resource*, 2012, no. 1 (2), pp. 62–72.
12. Barinova S., Gabyshev V., Gabysheva O. Climate impact of freshwater biodiversity: general patterns in extreme environments of North-Eastern Siberia (Russia). *British Journal of Environment and Climate Change*, 2014, no. 4 (4), pp. 423–443. doi: 10.9734/BJECC/2014/9530.
  13. Ghosh S., Barinova S., Keshri J.P. Diversity and seasonal variation of phytoplankton community in the Santragachi Lake, West Bengal, India. *QScience Connect*, 2012, no. 3, pp. 1–19.
  14. Barinova S. The effect of altitude on distribution of freshwater algae in continental Israel. *Current Topics in Plant Biology*, 2011, no. 12, pp. 89–95.
  15. Barinova S., Keshri J.P., Ghosh S., Sikdar J. The influence of the monsoon climate on phytoplankton in the Shibpukur pool of Shiva temple in Burdwan. West Bengal, India. *Limnological Review*, 2012, no. 2 (2), pp. 47–63. doi: 10.2478/v10194-011-0044-y.
  16. Barinova S. Essential and practical bioindication methods and systems for the water quality assessment. *International Journal of Environmental Sciences & Natural Resources*, 2017, no. 2 (3), pp. 1–11. doi: 10.19080/IJESNR.2017.02.555588.
  17. Barinova S.S. Polimorfizm soedinitel'nykh struktur diatomovykh vodorosley [Polymorphism of connective structures of diatomic algae]. In: *Evolyutsionnyye issledovaniya. Vavilovskie temy [Evolutionary studies. Vavilov's concepts]*. Vladivostok: FEB AS of USSR Publ., 1988, pp. 110–122. (In Russian).
  18. Barinova S. How to align and unify the cell counting of organisms for bioindication. *International Journal of Environmental Sciences and Natural Resources*, 2017, no. 2 (2), pp. 555–585. doi: 10.19080/IJESNR.2017.02.555585.
  19. Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council establishing a framework for Community action in the field of water policy. *Official Journal of the European Communities*, 2000, no. 327, 72 p. Available at: [http://ec.europa.eu/environment/water/water-framework/index\\_en.html](http://ec.europa.eu/environment/water/water-framework/index_en.html) (accessed 18.10.2018).
  20. UNEP/IPCS. Training module No. 3. Chemical risk assessment. Edinburgh: Edinburgh Centre for Toxicology Publ., 1999, 222 p.
  21. Barinova S.S., Tavassi M., Nevo E. Algal indicator system of environmental variables in the Hadera River basin, central Israel. *Plant Biosystems*, 2006, no. 140, pp. 65–79. doi: 10.1080/11263500500507593.
  22. Barinova S.S., Tavassi M., Nevo E. Diversity and ecology of algae from Alexander River (Central Israel). *Flora Mediterranea*, 2006, no. 16, pp. 111–132.
  23. Barinova S. Systemic criteria for the analysis of alpha- and gamma-diversity of freshwater algae. *International Journal of Environmental Sciences & Natural Resources*, 2017, no. 4 (2), pp. 555–633. doi: 10.19080/IJESNR.2017.04.555633.
  24. Barinova S.S. Empirical model of the functioning of aquatic ecosystems. *International Journal of Oceanography and Aquaculture*, 2017, no. 1 (3), pp. 1–9.

Поступила 01.11.2018

Принята к печати 11.12.2018