

UNIVERSITATEA „OVIDIUS“ CONSTANȚA
ȘCOALA DOCTORALĂ DE ȘTIINȚE APLICATE
DOMENIU FUNDAMENTAL: BIOLOGIE

REZUMAT AL TEZEI DE DOCTORAT

**MODIFICĂRI STRUCTURALE ȘI FUNCȚIONALE ALE
FITOPLANCTONULUI DIN APELE DE MICĂ ADÂNCIME
DIN ZONA MAMAIA SURVENITE ÎN ULTIMELE DOUĂ
DECENII**

CONDUCĂTOR ȘTIINȚIFIC:

Prof. Univ. Dr. MARIUS-MIRODON FĂGĂRAȘ

DOCTORAND:

VLAS OANA

CONSTANȚA

2021

CUPRINSUL INTEGRAL AL TEZEI

PARTEA I. STADIUL CUNOAȘTERII.....	14
I. INTRODUCERE	14
1.1. Caracteristici generale ale bazinului Mării Negre.....	16
1.1.1. Caracteristicile fizico-chimice ale apei Mării Negre.....	17
1.2. Stadiul cunoașterii fitoplanctonului din Marea Neagră.....	19
1.2.1. Generalități	19
1.2.2. Istoricul și stadiul cunoașterii fitoplanctonului la nivel național	20
1.2.3. Stadiul cunoașterii fitoplanctonului la nivel internațional	24
1.2.4. Diversitatea și evoluția principalelor grupe fitoplanctonice	26
II. FITOPLANCTONUL ÎN CONTEXTUL EUTROFIZĂRII ȘI ACIDIFIERII MĂRILOR ȘI OCEANELOR.....	34
2.1. Pompa biologică de carbon	37
2.2. Efectele acidifierii oceanelor asupra organismelor marine	39
III. METODE DE STUDIU AL COMUNITĂȚILOR FITOPLANCTONICE	41
3.1. Metode convenționale pentru colectarea, fixarea și stocarea probelor de fitoplancton	41
3.2. Sisteme automatizate de observare marină	46
 PARTEA A II-A. CONTRIBUȚII PERSONALE.....	53
IV. MATERIAL ȘI METODE.....	53
4.1. METODE DE LUCRU FOLOSITE ÎN STUDIUL CALITATIV ȘI CANTITATIV AL POPULAȚIILOR DE FITOPLANCTON DIN APELE DE MICĂ ADÂNCIME DIN ZONA MAMAIA	53
4.1.1. Descrierea zonei de lucru	54
4.1.2. Prelevarea și conservarea probelor de fitoplancton.....	57
4.1.3. Analiza și prelucrarea probelor și a datelor.....	58
4.2. METODE DE LUCRU FOLOSITE ÎN EXPERIMENTE	62
4.2.1. Mediul de cultură pentru diatomee.....	62
4.2.2. Condițiile de creștere a culturii	66
4.2.3. Condițiile de testare.....	67
4.2.4. Prelucrarea probelor și a datelor.....	69
4.3. METODA DE LUCRU PENTRU ANALIZA ACIDULUI TANIC DIN BIOMASA DE <i>S. COSTATUM</i>	71
4.3.1. Metode de producere, recoltare și uscare a biomasei.....	71
4.3.2. Prelevarea și fixarea probelor.....	73
4.3.3. Cromatografia de lichide de înaltă performanță (HPLC).....	74

V. REZULTATE ȘI DISCUȚII	75
5.1. COMPOZIȚIA CALITATIVĂ A FITOPLANCTONULUI DIN APELE DE MICĂ ADÂNCIME DIN ZONA MAMAIA ÎN ULTIMELE DOUĂ DECENII	75
5.1.1. Evoluția multianuală a diversității fitoplanctonului în apele de mică adâncime din zona Mamaia	75
5.1.2. Evoluția sezonieră a diversității fitoplanctonului în apele de mică adâncime din zona Mamaia în ultimele două decenii.....	80
5.1.3. Evoluția diversității din cadrul grupelor funcționale ale fitoplanctonului în apele de mică adâncime din zona Mamaia, în ultimele două decenii	83
5.1.4. Evoluția structurii calitative a fitoplanctonului pe clase de mărimi în apele de mică adâncime din zona Mamaia, în ultimele două decenii	86
5.1.5. Evoluția structurii calitative a fitoplanctonului în funcție de grupele ecologice întâlnite în apele de mică adâncime din zona Mamaia, în ultimele două decenii	88
5.2. ANALIZA CANTITATIVĂ A FITOPLANCTONULUI DIN APELE DE MICĂ ADÂNCIME DIN ZONA MAMAIA ÎN ULTIMELE DOUĂ DECENII	93
5.2.1. Variația multianuală a densității și biomasei totale a fitoplanctonului	93
5.2.2. Variația sezonieră a densității și biomasei medii totale a fitoplanctonului în ultimele două decenii.....	99
5.2.3. Dinamica fitoplanctonului în apele de mică adâncime din zona Mamaia în ultimele două decenii.....	101
5.2.4. Structura sezonieră a fitoplanctonului din ultimele două decenii – Analiza SIMPER	108
5.2.5. Evoluția densității și biomasei grupelor funcționale în ultimele două decenii	125
5.2.6. Evoluția densității și biomasei nano și microfitoplanctonului din ultimele două decenii	129
5.2.7. Evoluția densității și biomasei grupelor ecologice din cadrul fitoplanctonului din apele de mică adâncime din zona Mamaia în ultimele două decenii	133
5.3. STUDII EXPERIMENTALE.....	139
5.3.1. Influența variațiilor de temperatură asupra dezvoltării speciei <i>Skeletonema costatum</i>	139
5.3.2. Influența raportului nutrienților (azot și fosfor) asupra dezvoltării speciei <i>Skeletonema costatum</i>	141
5.3.3. Potențialul microalgelor (studiu de caz <i>Skeletonema costatum</i>) ca alternativă naturală a substanțelor chimice din industria cosmetică și farmaceutică și în biotehnologii	147
VI. CONCLUZII.....	152
VII. BIBLIOGRAFIE.....	156
VIII. ANEXE.....	169
IX. ACTIVITATEA ȘTIINȚIFICĂ PE DURATA STAGIULUI DE DOCTORAT	188

OBIECTIVELE ȘI SCOPUL LUCRĂRII

Înțelegerea caracteristicilor comunităților naturale, cum ar fi bogăția specifică, abundența, grupele dominante și structura rețelei trofice, necesită o abordare atât teoretică, descriptivă, cât și experimentală. Cunoașterea acestor aspecte permite prezicerea stării viitoare a ecosistemului și o mai bună imagine a impactului schimbărilor de mediu asupra componentei biologice. De asemenea, sunt cunoștințe importante în elaborarea politicilor și a deciziilor de management.

Necesitatea unei mai bune înțelegeri a impactului eutrofizării asupra ecosistemelor costiere a fost unul dintre motivele principale pentru explorarea relațiilor dintre comunitățile producătorilor primari și fluctuațiile concentrațiilor de nutrienți. Modificările concentrațiilor de nutrienți din mediul înconjurător pot afecta, de asemenea, compoziția speciilor fitoplanctonice, cantitatea de hrană disponibilă zooplanctonului și transferul energiei către niveluri trofice superioare.

Scopul tezei este înțelegerea factorilor care controlează compoziția și dinamica fitoplanctonului din apele de mică adâncime din zona Mamaia pentru estimarea impactului schimbărilor climatice și a presiunii antropice asupra ecosistemelor costiere.

Principalele obiective ale tezei sunt:

1. Identificarea modificărilor apărute în structura calitativă și cantitativă a fitoplanctonului din apele de mică adâncime din zona Mamaia din ultimele două decenii.
2. Identificarea tendinței de evoluție multianuală și sezonieră a fitoplanctonului din apele de mică adâncime din zona Mamaia din ultimele două decenii.
3. Identificarea și analiza factorilor care au influențat modificările din structura calitativă și cantitativă a fitoplanctonului din apele de mică adâncime din zona Mamaia din ultimele două decenii.
4. Furnizarea de date obținute într-un mediu controlat (experimente în laborator) privind presiunea antropică asupra mediului din punct de vedere al creșterii temperaturii și a unor raporturi azot:fosfor dezechilibrate.
5. Prezentarea potențialului microalgelor (în special *S. costatum*) ca alternativă naturală la substanțele chimice din industria cosmetică și farmaceutică și în biotehnologii.

Contribuțiile personale constau în principal în analiza pe termen lung a fitoplanctonului din apele de mică adâncime din zona Mamaia furnizând date noi asupra evoluției bazei lanțului trofic, evidențierea modificărilor din structura multianuală și sezonieră a fitoplanctonului și a factorilor care au influențat aceste schimbări printr-o abordare atât teoretică, descriptivă, cât și experimentală folosind metode actuale de prelucrare a datelor precum PRIMER 7, testul ANOVA, testul *t*.

Cuvinte cheie: fitoplancton, eutrofizare, culturi microalgale, biotehnologii, acidifiere, Marea Neagră, experimente, *Skeletonema costatum*.

Teza de doctorat intitulată „Modificări structurale și funcționale ale fitoplanctonului din apele de mică adâncime din zona Mamaia survenite în ultimele două decenii”, este alcătuită din două părți și este structurată în cinci capitole.

Partea I cuprinde stadiul actual al cunoașterii. În primele trei capitole sunt prezentate informații din literatura de specialitate, care reflectă stadiul actual al cunoașterii în ceea ce privește evoluția și rolul fitoplanctonului ca bază a piramidei trofice din ecosistemul marin, efectele eutrofizării și ale acidifierii mărilor și oceanelor și metode de studiu ale fitoplanctonului.

Partea a II-a cuprinde contribuțiile personale. Capitolul patru prezintă metodele de lucru folosite în studiul comparativ al datelor din teren din ultimele două decenii și metodele folosite în studiile experimentale. Capitolul cinci evidențiază modificările din structura calitativă și cantitativă a fitoplanctonului din ultimele două decenii din apele de mică adâncime din zona Mamaia și aplicarea metodelor experimentale.

PARTEA I. STADIUL CUNOAȘTERII

Marea Neagră este una dintre cele mai întinse mări interioare situată între Europa și Asia, conectată la Oceanul Atlantic prin Marea Mediterană, Marea Marmara și Marea Egee. În anul 1933, oceanograful rus M. N. Knipovici, a atribuit Mării Negre calitatea de „*unicum hidrobiologicum*” datorită particularităților fizice, chimice și biologice deosebite față de celelalte mări și oceane ale lumii. Particularitățile privesc configurația și dispunerea platformei continentale (șelf), stratificarea coloanei de apă, lipsa unei circulații pe verticală, cel mai mare conținut de hidrogen sulfurat al apelor de adâncime din lume, aportul ridicat de apă dulce cu un nivel ridicat de nutrienți și detritus, schimbul redus de mase de apă cu Marea Mediterană, variații spațiale și temporale ample ale proprietăților fizice și chimice, cu valori ale salinității reduse la jumătate față de cele întâlnite în restul mărilor și oceanelor și compoziția ușor diferită a raporturilor ionice față de cele din Oceanul planetar (Knipovici, 1933).

Termenul *fitoplancton* provine de la cuvintele grecești *phyton* (care înseamnă plantă) și *planktos* (care înseamnă hoinar sau în derivă). Fitoplanctonul este format din organisme microscopice fotosintetizante care se dezvoltă optim în stratul superior, iluminat din toate oceanele și corpurile de apă dulce. În ciuda dimensiunilor mici, fitoplanctonul are o importanță enormă în lanțul trofic acvatic reprezentând sursa de hrană pentru o varietate de organisme, pești și crustacee care asigură la rândul lor o sursă de hrană pentru animale mai mari. În plus, fitoplanctonul asigură o mare parte din oxigenul pe care îl respirăm, iar fitoplanctonul fosilizat este asociat cu depozite de ulei și depozite bentale (Moncheva, 2008).

O înțelegere mai bună a variabilității naturale a fitoplanctonului este astfel importantă pentru prognozarea impactului schimbărilor climatice asupra funcționării ecosistemului acvatic. O provocare actuală este de a anticipa modul în care se propagă modificările în compoziția fitoplanctonului până la nivelurile trofice superioare, precum și modul în care efectele sinergetice ale încălzirii climatice și alte schimbări de mediu vor afecta funcționarea ecosistemelor. Gradul de modificări fizice și capacitatea speciilor de adaptare la condițiile de mediu în schimbare vor influența foarte mult dinamica rețelei trofice în timpul viitoarelor încălziri climatice și vor deveni din ce în ce mai variabile.

La nivel național, studiul fitoplanctonului se întinde pe o perioadă de 142 de ani, primele cercetări referitoare la microalge datând încă din secolul al XIX-lea, când Julius Schaarschmidt,

profesor la Universitatea din Cluj, a realizat capitolul referitor la alge, în sinteza „Flora României”. Astfel, între 1879 și 1958 s-au evidențiat numeroase lucrări privind **cunoașterea calitativă** a fitoplanctonului elaborate de E. Teodorescu, I. Borcea, E. Vasilescu - Marinescu, S. Negrea. În această perioadă, au fost publicate liste de specii, mai puțin informații despre dezvoltarea cantitativă a fitoplanctonului. Abia din 1958-1960 interesul specialiștilor s-a orientat și către **analiza cantitativă** a fitoplanctonului. Se remarcă numeroase articole publicate de H. Skolka, A. Petran, N. Bodeanu, M.-T. Gomoiu, M. Ușurelu, P.-E. Mihnea, Ș. Péterfi și A. Ionescu abordând aspecte variate, începând cu studiul fenomenului de înflorire a fitoplanctonului încă din '60, compoziția fitoplanctonului și particularitățile de distribuție ale acestuia (1964-1969), studii asupra dinamicii de dezvoltare anuală și sezonieră a fitoplanctonului, distribuția spațio-temporală a cantității sale și producția fitoplanctonului și importanța microfitelor planctonice ca sursă de hrană pentru anumite specii de moluște și studii experimentale ecofiziologice.

O mare parte a lucrărilor apărute în secolul XXI publicate de Bodeanu (2001), Sburlea (2004), Popa (2004), Bologa (2012), Gomoiu (2004) abordează diferite probleme privind studiul comunităților fitoplanctonice cum ar fi: eutrofizarea, schimbările climatice și efectul acestora, realizarea unor simulări utilizând date dintr-o perioadă mare de timp pentru a înțelege mecanismele ce determină aceste fenomene și pentru a afla dacă există o tendință în evenimentele produse. Din 1996 și până în prezent, Laura Boicenco a dus mai departe studiul calitativ și cantitativ al fitoplanctonului de la litoralul românesc al Mării Negre atât din zona de mică adâncime, cât și de pe platformă continentală cuprinsă între Sulina și Vama Veche, până la stații din zona de larg cu adâncimi de 2000 m. Din 2013, respectiv 2015, subsemnata și Elena Pantea i s-au alăturat pentru a duce împreună mai departe studiul fitoplanctonului.

Se observă astfel un progres în cercetarea fitoplanctonului, comparativ cu primele lucrări apărute în secolul XIX care se bazau doar pe inventarierea speciilor fitoplanctonice. Acest progres a fost posibil datorită conștientizării importanței studiilor biologice și ecologice, în special la nivel european și acordarea de finanțări pentru acest domeniu, ceea ce au condus la progresul tehnologiei pentru o mai bună înțelegere a interacțiunilor complexe dintre activitățile umane și zona costieră.

În ultimii 20 de ani, cercetători din țările riverane Mării Negre precum Oguz, Gilbert, Besiktepe, Dromph, Kopelevich s-au concentrat pe studii privind schimbările climatice,

eutrofizarea, potențialul toxic al unor specii, speciile non-indigene, îmbunătățirea metodelor de lucru și utilizarea teledetecției ca o metodă complementară de cercetare a comunităților fitoplanctonice.

Estimările actuale sugerează că au fost descrise între 4000 și 5000 de specii aparținând fitoplanctonului marin (Sournia *et al.*, 1991). Principalele eucariote pelagice cu reprezentanți atât în mediul dulcicol cât și în cel marin sunt diatomeele, haptofitele (cocolitoforidele) și dinoflagelatele care se remarcă prin originile relativ recente, din perioada mesozoică.

Apariția din perioada mezozoică a diatomeelor, cocolitoforidelor și a dinoflagelatelor în arhiva fosiliferă oferă o ilustrare clară despre cum a evoluat diversificarea microalgelor. Deși nu este sigur faptul că aceste grupe nu au existat înainte, nu este nici un dubiu despre dezvoltarea lor extraordinară în timpul Mezozoicului. Un alt posibil factor declanșator ar fi extincția masivă de la sfârșitul perioadei Permieni, când a avut loc o eliberare imensă de lavă vulcanică, cenușă și învăluire de praf din zona care acum este nordul Siberiei, care a dus la scăderea temperaturii la nivel mondial. Tendința a fost inversată rapid prin acumularea de dioxid de carbon în atmosferă și o perioadă de încălzire globală severă (care, împreună cu mobilizarea metanului din sedimentele marine, a ridicat temperatura mediului ambiant cu 10-11 °C). Viața pe Pământ a suferit un regres sever, fiind aproape de eradicarea totală. Într-o perioadă de mai puțin de 0,1 milioane de ani, multe specii pe cale de dispariție au dispărut și numărul supraviețuitorilor a fost grav redus. Odată cu răcirea planetei în următorii aproximativ 20 de milioane de ani, atât pe uscat cât și în apă, biota a fost capabilă să se extindă în habitate și nișe care erau altfel neocupate (Falkowski, 2002).

S-au descoperit fosile de dinoflagelate din perioada de început a Triasicului, iar cele de cocolitoforide, din perioada de sfârșit a Triasicului (în jur de 180 milioane de ani). Împreună cu diatomeele, multe specii noi au apărut în Jurasic și Cretacic. În mediul marin, aceste diatomee, dinoflagelate și haptophyte și-au asumat o poziție dominantă față de cea mai mare parte a celorlalte microalge, cu excepția picocianobacteriilor, care continuă și în prezent.

În sistemele marine, stoechiometria producției primare este determinată de raportul dintre elementele citoplasmei (raportul Redfield) care susține metabolismul optim al fitoplanctonului. Raportul C:N:P este destul de constant în fitoplanctonul marin (106:16:1), iar acest raport din producătorii primari constrânge ciclul tuturor elementelor. Cantitatea și proporțiile disponibile de azot și fosfor determină cantitatea de carbon fixată de fitoplancton (Redfield, 1958).

Limitarea, prin oricare dintre aceste elemente, constrânge orice acumulare suplimentară de carbon sau de alți nutrienți de către fitoplancton. La rândul lor, carbonul și substanțele nutritive din fitoplancton, determină circuitul substanțelor nutritive în apele de larg și în timpul fenomenului de upwelling, astfel încât cererea biotică de azot și fosfor se corelează cu disponibilitatea acestora (Chapin *et al.*, 2007).

În cei peste 200 de ani de la începutul revoluției industriale, concentrația de dioxid de carbon (CO₂) în atmosferă a crescut din cauza activităților umane. În special, eliberarea de CO₂ din utilizarea combustibililor fosili, fabricarea cimentului și defrișări, încă de la începutul erei industriale, a crescut presiunea parțială a concentrației dioxidului de carbon atmosferic de la 280 ppm până la valorile actuale de 400 ppm (Bates, 2019). În acest timp, pH-ul apelor oceanice de suprafață a scăzut cu 0,1 unități. Deși nu pare a fi o modificare semnificativă, scala pH-ului este logaritmică, astfel încât această modificare reprezintă o creștere a acidității cu aproximativ 30% (NOAA, 2020).

Cu toate că în România există un cadru legislativ pentru transpunerea strategiei europene marine în legislația română, pentru actualizarea programului național de monitorizare a apelor marine conform Directivei Cadru Strategia pentru Mediul Marin (DCSMM), Directivei Cadru-Apă (DCA), Legii 278/2013 privind emisiile industriale și Convenției pentru Protecția Mării Negre împotriva Poluării pentru prevenirea și controlul integrat al poluării, **nu este menționată nici o acțiune specifică de evaluare și reducere a acidifierii**. Legislația românească suplimentară bazată pe Directiva 2006/7/CE privind gestionarea calității apei pentru scăldat, Directiva Nitrați (91/676/CEE) și Directiva Habitate (92/43/CEE) nu abordează problema acidifierii direct. În 2012, Institutul Național pentru Cercetare și Dezvoltare Marină „Grigore Antipa” Constanța, a publicat un raport preliminar privind Evaluarea Inițială a stării actuale a apelor litoralului românesc al Mării Negre conform cerințelor Directivei 2008/56/CE a Parlamentului European. În prezent, este **singurul document oficial** care ia în considerare în mod serios această problemă, cât și necesitatea de a evalua starea acidifierii în apele teritoriale (Galdies, 2020).

PARTEA a II-a. CONTRIBUȚII PERSONALE

IV. MATERIAL ȘI METODE

4.1. METODE DE LUCRU FOLOSITE ÎN STUDIUL CALITATIV ȘI CANTITATIV AL POPULAȚIILOR DE FITOPLANCTON DIN APELE DE MICĂ ADÂNCIME DIN ZONA MAMAIA

Pentru observarea modificărilor structurale și funcționale ale fitoplanctonului din ultimele două decenii am prelucrat datele colectate din apele de mică adâncime din zona Mamaia. Contribuția personală a constat în prelucrarea și interpretarea întregului set de date din perioada 2000-2019 din apele de mică adâncime din zona Mamaia și în analiza microscopică a probelor începând cu anul 2011, din timpul practicii la INCDM „Grigore Antipa” Constanța pentru realizarea lucrării de licență. Primul pas pentru analiza calitativă și cantitativă a fitoplanctonului din apele de mică adâncime din zona Mamaia, a constat în combinarea fișelor într-un singur tabel în excel și uniformizarea și actualizarea denumirilor științifice ale fiecărei specii conform WoRMS. Pentru a observa tendințele de evoluție ale fitoplanctonului în relație cu parametrii fizico-chimici am realizat o analiză comparativă calitativă și cantitativă a fitoplanctonului din ultimele două decenii consultând și literatura de specialitate disponibilă.

Datele privind valorile parametrilor fizico-chimici au fost prelucrate de Laboratorul de Măsurători și Analize din cadrul INCDM „Grigore Antipa” Constanța. Contribuția personală a constat în combinarea și aranjarea șirului de date din perioada 2000-2019 într-o bază de date, calcularea mediilor lunare multianuale și realizarea și interpretarea graficelor.

Setul de date cuprinde 1797 de probe de fitoplancton, cu o medie lunară de 5-6 probe/lună prelevate în timpul iernii, 6-7 probe/lună în timpul primăverii, 7-10 probe/lună în timpul verii și 6-8 probe/lună în timpul toamnei. Astfel, am considerat că, deși datele provin dintr-o singură stație, pot oferi o imagine mai apropiată de realitate în ceea ce privește surprinderea modificărilor. Variația numărului de probe s-a datorat condițiilor meteorologice, care uneori sunt nefavorabile și nu permit prelevarea probelor în siguranță (în special în timpul iernii), și interesului cercetătorilor în cazul observării unor fenomene de înflorire.

4.1.1. Descrierea zonei de lucru

Stația din apele de mică adâncime din zona Mamaia (adâncime de 2-3 m) a fost aleasă pentru identificarea modificărilor structurale și funcționale ale fitoplanctonului din ultimele două decenii din apele costiere ale litoralului românesc al Mării Negre deoarece este **singura stație de monitorizare bisăptămânală pe termen lung (Fig. 21)**. De-a lungul litoralului românesc al Mării Negre există o rețea de stații de monitorizare care cuprinde ape costiere, marine și de larg, dar frecvența de prelevare a probelor este sezonieră/anuală, accesul la aceste stații fiind condiționat de existența unei nave de cercetare, de condițiile meteo și de un buget dedicat unei astfel de cercetări. Astfel, stația din baia Mamaia permite o caracterizare detaliată a zonei costiere (de mică adâncime) din punct de vedere al evoluției fitoplanctonului, fiind supusă atât influenței Dunării, cât și impactului antropic din zonă (urbanizare, turism și activitățile din portul Midia).

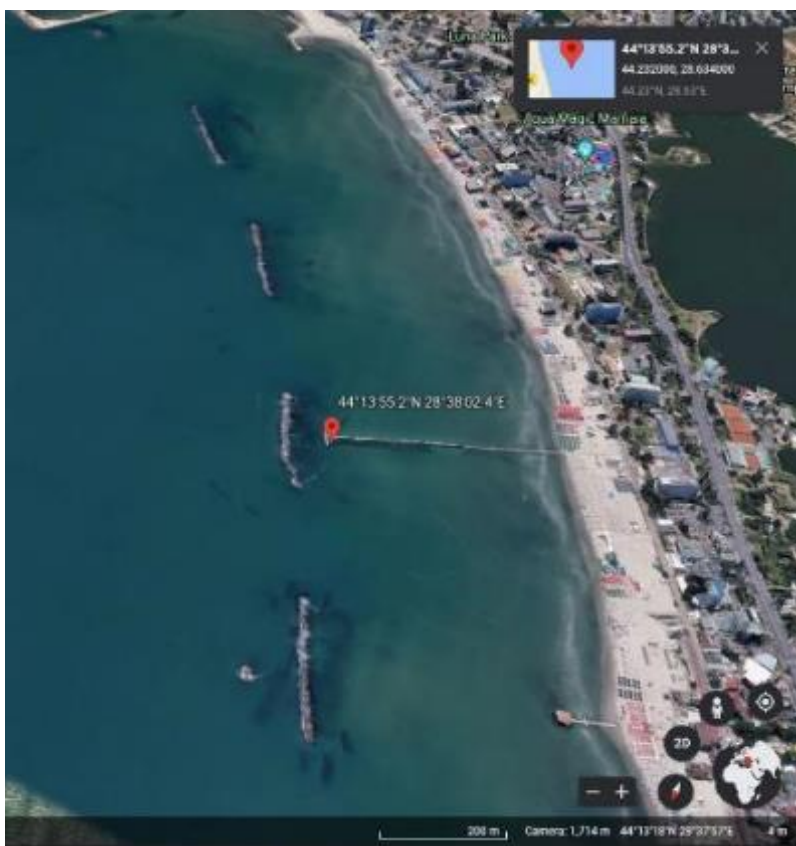


Fig. 21. Localizarea stației din baia Mamaia

4.1.3. Analiza și prelucrarea probelor și a datelor

Identificarea și numărarea celulelor fitoplanctonice s-a realizat la microscopul inversat conform metodei Utermohl folosită în laboratoarele unde interesul cade mai ales pe probleme de ecologie, hidrografie și botanică (Utermohl, 1958).

Pentru identificarea speciilor am folosit atât determinatoare (Kisselew, 1950, 1951, Proshkina-Lavrenko, 1955, Carmelo R. Thomas, 1993, 1995, Schiller, 1937), cât și baze de date disponibile online (World Register of Marine Species, Nordic Microalgae, AlgaeBase). Toate microalgele întâlnite au fost identificate până la nivel de specie, gen sau grup algal, numărându-se toate celulele fiecărei specii/gen/grup întâlnit. Aceste informații s-au înscris într-o fișă de lucru, alături de informațiile de pe etichetă. Fișele de lucru le-am introdus apoi în format electronic (xls) cu ajutorul unui software bazat pe sistemul dBase.

Am calculat **densitatea** numerică (D) și biomasa pentru fiecare specie, pentru fiecare clasă taxonomică, pentru fiecare grup funcțional și ecologic, pentru fiecare clasă de mărime și pe fitoplancton total. Rezultatul numărării celulelor algale din fracția de probă analizată se raportează la un litru de apă, în funcție de factorul de diluție/multiplicare. Valorile medii lunare și anuale ale fitoplanctonului din apele de mică adâncime din zona Mamaia și analiza **SIMPER** au fost obținute cu ajutorul **PRIMER 7** (Clarke *et al.*, 2014). Graficele și tabelele au fost realizate cu ajutorul Microsoft Excel, iar pentru aplicarea **testului t** s-a folosit platforma GraphPad disponibilă online. Valorile debitului Dunării pentru anul 2018 au fost preluate de pe site-ul Institutului Național de Hidrologie și Gospodărire a Apelor ([http://www.inhga.ro/diagnoza si prognoza dunare](http://www.inhga.ro/diagnoza_si_proгноza_dunare)). Valorile privind radiația globală înregistrate la stația Constanța au fost preluate de la World Radiation Data Center (<http://wrdc.mgo.rssi.ru/>), cele mai recente date disponibile fiind cele din anul 2006.

4.2. METODE DE LUCRU FOLOSITE ÎN EXPERIMENTE

4.2.1. Mediul de cultură pentru diatomee

Metoda de lucru descrisă pentru mediul de cultură a fost adaptată după recomandările din ISO 10253:2016 și Andersen, 2005. Astfel, prima etapă constă în prepararea soluțiilor stoc de chelator și micronutrienți, macronutrienți și vitamine. Apoi, într-un balon cotat de 1000 ml se adaugă 200-300 ml de apă de mare sterilizată, 15 ml din substanța stoc de micronutrienți, 0,5

ml din substanța stoc de vitamine și 1 ml din substanța stoc de macronutrienți. Se agită după adăugarea fiecărei substanțe stoc. Se aduce la semn cu apă de mare sterilizată. Dacă este nevoie, se ajustează pH-ul la $8,0 \pm 0,2$ prin adăugarea de acid clorhidric diluat sau soluție de hidroxid de sodiu. Mediul de cultură se depozitează în întuneric la 4°C și este valabil maxim 7 zile.

4.2.2. Condițiile de creștere a culturii

Specia de diatomee *Skeletonema costatum* a fost izolată din apele de mică adâncime din zona Mamaia prin filtrări și diluții succesive obținând în timp culturi monospecifice (Culcea, 2017). Culturile sunt menținute într-un incubator, în baloane Erlenmeyer de 250 ml, la $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$, pe un agitator orbital la 70 rotații/minut. Pentru iluminare sunt folosite lămpi fluorescente cu o intensitate de aproximativ 4500-5000 lx setate să ofere un ciclu de 14 ore de lumină și 10 ore de întuneric. La 3-4 zile se fac subculturi prin transferarea a 1 ml din cultura stoc în creștere exponențială în 100 ml de mediu de cultură.

4.2.3. Condițiile de testare

Pentru observarea dezvoltării speciei *S. costatum* la temperaturi cuprinse între 8 și $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$, păstrând condițiile inițiale de iluminare și agitare am inoculat celule în faza de creștere exponențială în mediu de cultură pentru diatomee și am setat termostatul să scadă treptat temperatura, la fiecare 24 de ore, cu aproximativ $1,5 - 2,0^{\circ}\text{C}$ până când s-a ajuns la temperatura de aproximativ 8°C . La fiecare $24-48 \pm 2$ ore am prelevat o probă de 1 ml cu o pipetă Pasteur sterilă. O dată la 2-4 zile am realizat subculturi din cultura stoc inițială. Experimentul a fost repetat de trei ori. Au fost prelevate și analizate 36 de probe. Analiza s-a făcut pe rata medie de creștere din faza exponențială.

Pentru observarea dezvoltării speciei *S. costatum* în condiții limitative de azot (N/P=4,2), de fosfor (N/P=63,3), în condiții optime conform Redfield, 1958 (N/P=16) și în condițiile recomandate de ISO 10253:2016 (N/P=18,8) am inoculat celule provenite din culturi în faza de creștere exponențială în fiecare tip de mediu de cultură. Pentru fiecare condiție nutritivă s-au realizat câte trei replici, dispuse randomizat pe un agitator orbital la 80 rotații/minut, la o temperatură de $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ și iluminare de 4500-5000 lx. La fiecare 24 ± 2 ore, s-au prelevat probe (1 ml) din fiecare recipient de testare (12 probe). Probele au fost dispuse în eprubete etichetate și fixate cu 0,03 ml de formaldehidă 37%. Experimentul s-a încheiat la 9 zile după inoculare, în

momentul în care culturile au început să intre în faza de declin. Au fost prelevate și analizate 120 de probe.

4.2.4. Prelucrarea probelor și a datelor

Densitatea a fost estimată cu ajutorul hemocitometrului. Pentru fiecare cultură de testare s-a calculat rata de creștere (ISO 10253:2016): $\mu = \frac{\ln N_L - \ln N_0}{t_L - t_0}$, unde: t_0 = momentul de start al experimentului, t_L = momentul de finalizare a testului sau ultimei măsurători realizate în martor în faza de creștere exponențială, N_0 = densitatea inițială a celulelor, N_L = densitatea celulelor măsurată în momentul t_L . Diviziunile pe zi (k) și timpul de dublare a populației (T_2) au fost calculate conform formulei $k = r/\ln 2$, $T_2 = \ln 2/r$, unde $r = \mu$ (presupunând creștere exponențială și mortalitatea zero). Orele necesare pentru dublarea densității au fost calculate prin înmulțirea timpului de dublare cu 24 de ore (Andersen, 2005). Densitatea și ratele de creștere exponențiale au fost reprezentate pe curbe de creștere. Pentru o mai bună vizualizare a fazelor de creștere, a fost utilizat instrumentul de analiză Moving Average. Au fost aplicate testul t și testul ANOVA pentru a studia dacă există diferențe statistice privind dezvoltarea *S. costatum* în condiții nutritive diferite.

4.3. METODA DE LUCRU PENTRU ANALIZA ACIDULUI TANIC DIN BIOMASA DE *S. COSTATUM*

Contribuția personală la această analiză a constat în producerea, recoltarea și liofilizarea biomasei de *S. costatum*, iar analiza HPLC pentru identificarea și determinarea acidului tanic a fost contribuția doamnei Conf. univ. dr. Laura Bucur.

Pentru obținerea biomasei necesare pentru analiza conținutului de acid tanic am inoculat alge aflate în faza de creștere exponențială într-un balon Erlenmeyer de 4 L care conținea 2 L de mediu de cultură pentru diatomee (ISO 10253:2016). Am prelevat probe (1 ml) imediat după inoculare și înainte de recoltare (la patru zile după inoculare). Probele au fost puse în recipiente etichetate și au fost fixate cu 30 μ L de formaldehidă 37%. Cultura a fost expusă la iluminare continuă cu o intensitate de 7000-8000 lx și agitare la 50 rotații/minut. După patru zile, biomasa a fost recoltată cu ajutorul unui sistem de filtrare cu vacuum utilizând filtre Millipore de 0,45 μ m. Filtrele cu biomasa umedă au fost cântărite și liofilizate. Biomasa liofilizată a fost transferată într-un vas Petri sigilat cu parafină.

Identificarea și determinarea conținutului de acid tanic s-a realizat prin metoda HPLC.
Identificarea și cuantificarea acidului tanic s-a realizat **pe baza substanței de referință** pentru care **timpul de retenție (RT)** a fost determinat la **$1,15 \pm 0,05$ min.**

V. REZULTATE ȘI DISCUȚII

5.1. COMPOZIȚIA CALITATIVĂ A FITOPLANCTONULUI DIN APELE DE MICĂ ADÂNCIME DIN ZONA MAMAIA ÎN ULTIMELE DOUĂ DECENII

Din punct de vedere al **evoluției multianuale a diversității fitoplanctonului** în perioada 2000-2019, în apele de mică adâncime din zona Mamaia, au fost identificate 352 de specii, varietăți și forme de microalge aparținând la 17 clase taxonomice, numărul minim, de 75 de specii fiind identificat în anul 2003 și numărul maxim, de 166 specii în 2013 (**Fig. 39**). **Deși s-au înregistrat fluctuații de la un an la altul, tendința generală din ultimii 20 de ani a fost pozitivă ($R^2=0,63$).**

Astfel, bogăția specifică din apele de mică adâncime din zona Mamaia din ultimii 20 de ani este mai mare comparativ cu raportările de **până în 1969**, perioadă în care au fost identificate 320 de specii în zona de mică adâncime de la litoralul românesc al Mării Negre (de pe profilele Mangalia, Constanța, Midia, Portița, Sf. Gheorghe, Mila 9, Sulina, până la adâncimi de 31 de m) (Băcescu *et al.*, 1965, Skolka, 1967, Băcescu *et al.*, 1967, Bodeanu, 1969).

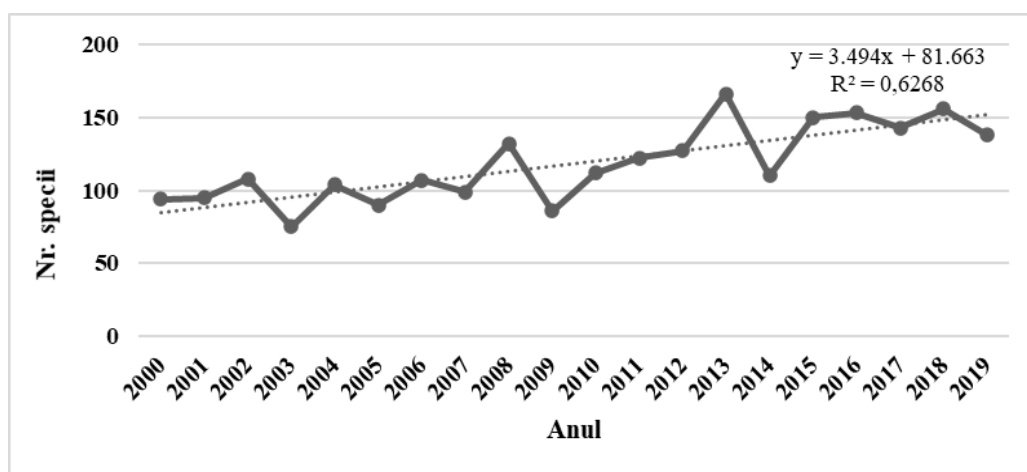


Fig. 39. Evoluția multianuală a diversității fitoplanctonului în apele de mică adâncime din zona Mamaia

În perioada 2000-2019 se remarcă **dominanța diatomeelor** (143 de specii) și a **dinoflagelatelor** (80 de specii) care au reprezentat împreună 64% din numărul total de specii, fiind urmate de **clorofite** (42 de specii) și **cianobacterii** (35 de specii) cu 12%, respectiv 10% (Fig. 40).

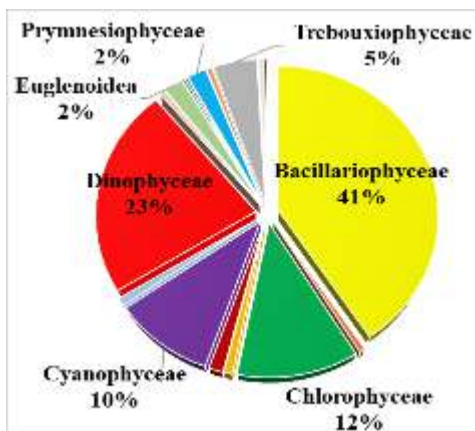


Fig. 40. Compoziția taxonomică a fitoplanctonului în perioada 2000-2019

În **perioada 2010-2019** au fost identificate 280 de specii de microalge, cu **6% mai multe** decât în perioada 2000-2009. În cadrul clasei **Dinophyceae**, s-a remarcat o **creștere cu 24%** a speciilor identificate în perioada 2010-2019 (70 de specii) față de perioada anterioară (51 de specii) (Fig. 41).

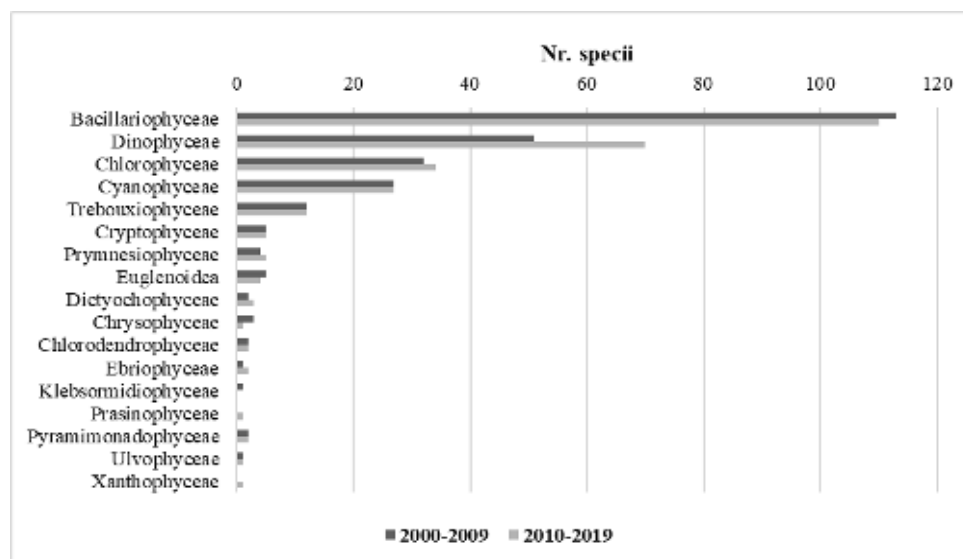


Fig. 41. Diversitatea fitoplanctonului în apele de mică adâncime din zona Mamaia din ultimele două decenii

Clasa *Chlorophyceae* a înregistrat o creștere cu 4,8% în ultimii 10 ani, comparativ cu deceniul anterior. S-a observat prezența unor **specii benefice** pentru ecosistemul marin prin capacitatea lor de a acumula metale grele, de a îndepărta nutrienții, dar și prin conținutul ridicat de lipide (Dao *et al.*, 2020; Bogen *et al.*, 2013; Issa *et al.*, 1995, Patil *et al.*, 1991, Ahmad *et al.*, 2020).

Unul dintre factorii principali care influențează diversitatea fitoplanctonului este **aportul de apă dulce și nutrienți** al fluviilor tributare Mării Negre care este dispersat de **vânt și curenți** de-a lungul litoralului românesc. **Salinitatea** influențează diversitatea fitoplanctonului (Larson *et al.*, 2013), funcționarea celulei și rata de creștere (Kinne, 1971). Una dintre cauzele principale ale variației sezoniere a diversității fitoplanctonului poate fi **frecvența prelevării de probe**. În timpul verii, frecvența prelevării de probe a fost mai ridicată decât în celelalte sezoane (cu o medie de 7-10 probe), ceea ce a mărit probabilitatea de a întâlni și speciile ocazionale. Un alt factor important care ar fi putut influența tendința pozitivă a diversității fitoplanctonului este experiența obținută prin implicarea studiului fitoplanctonului în numeroase proiecte atât naționale, cât și internaționale (Proiecte Nucleu, Emodnet, MISIS, Anemone), **exercițiile de intercalibrare**, cât și **microscopale de generație nouă**.

Din punct de vedere al **grupelor funcționale**, fitoplanctonul identificat în apele de mică adâncime din zona Mamaia din ultimele două decenii a fost format din **245 de specii autotrofe și 107 specii heterotrofe** reprezentând 70%, respectiv, 30% din numărul total de specii identificate în cei 20 de ani. Având în vedere faptul că adâncimea maximă a stației de prelevare a probelor din apele de mică adâncime din zona Mamaia este de aproximativ 3 m, iar prelevarea probelor s-a făcut numai de la suprafața apei (aproximativ 0,5 m), condițiile de **iluminare** susțin activitatea fotosintetică a microalgelor autotrofe, fiind mai abundente în stratul eufotic decât heterotrofele. **În al doilea deceniu**, numărul autotrofelor a rămas constant, iar **numărul heterotrofelor a crescut la 90 de specii (Fig. 44)**. Deși în timpul toamnei din perioada 2010-2019 concentrația de nutrienți a fost asemănătoare cu cea din timpul primăverii, se pare că alți parametri precum **temperatura** (10-15°C) și **radiația solară** mai puțin intensă decât primăvara **au limitat dezvoltarea abundentă a comunității fitoplanctonice, dar au favorizat diversitatea autotrofelor**. Însă, speciile **heterotrofe**, reprezentate în special de dinoflagelate și criptofite, preferă **apele mai calde și salinitatea mai crescută** din timpul verii.

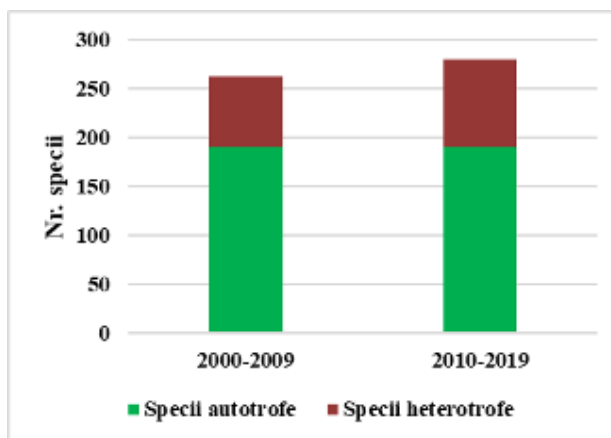


Fig. 44. Structura fitoplanctonului din apele de mică adâncime din zona Mamaia conform grupelor funcționale, în ultimele două decenii

Fitoplanctonul **autotrof** a fost reprezentat în special de reprezentanți ai claselor *Bacillariophyceae* (35-46%), *Chlorophyceae* (11-14%), *Cyanophyceae* (9-10%) și *Trebouxiophyceae* (3-6%). Fitoplanctonul **heterotrof** a fost reprezentat în special de **dinoflagelate**, a căror contribuție la diversitate a variat, în primul deceniu, între 16% (iarna) și 25% (toamna), iar în cel de-al doilea deceniu, între 23% (iarna) și 28% (vara) (**Fig. 46**).

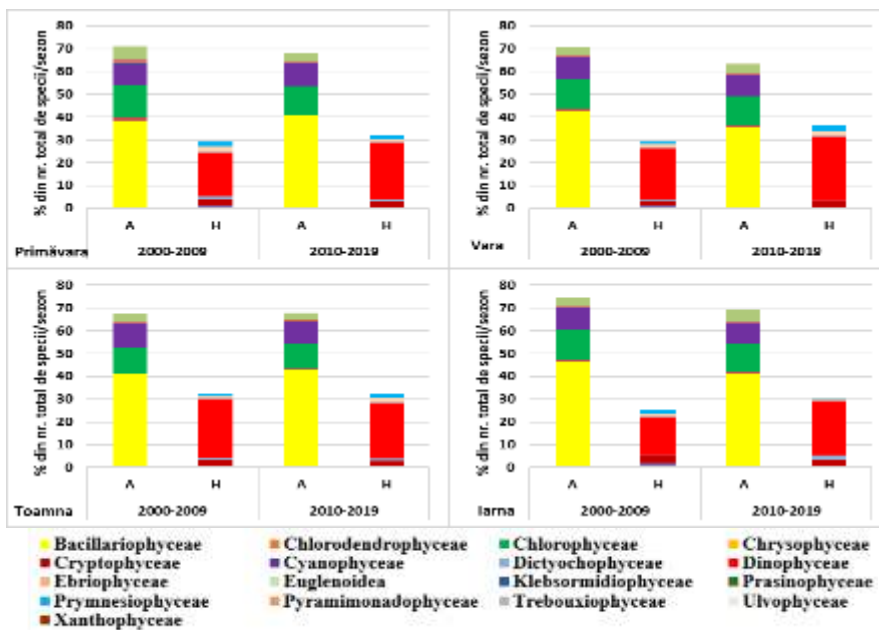


Fig. 46. Compoziția taxonomică procentuală sezonieră a grupelor funcționale (A-specii autotrofe, H-specii heterotrofe) din cadrul fitoplanctonului din apele de mică adâncime din zona Mamaia, din ultimele două decenii

Din punct de vedere al **structurii pe clase de mărimi**, fitoplanctonul din apele de mică adâncime din zona Mamaia din ultimele două decenii a cuprins **150 de specii nanoplanctonice și 202 specii microplanctonice (Fig. 47)**. Microfitoplanctonul a fost reprezentat în special de *Bacillariophyceae* și *Dinophyceae*, iar nanofitoplanctonul de **clorofite, diatomee și cianobacterii**. **Speciile microfitoplanctonice au reprezentat peste 50% (52-57%)** în fiecare sezon din cele două perioade analizate. În primul deceniu, s-a observat o **diferență** mai mare (de 14%) între numărul de specii nano și microfitoplanctonice identificate în sezonul de toamnă (Fig. 48), care a corespuns cu o **concentrație mai mare de nutrienți** (8,95 μM , în septembrie), deoarece absorbția nutrienților este mai lentă în cazul speciilor cu un biovolum mai mare, la fel ca și rata de multiplicare (Sigman și Hain, 2012).

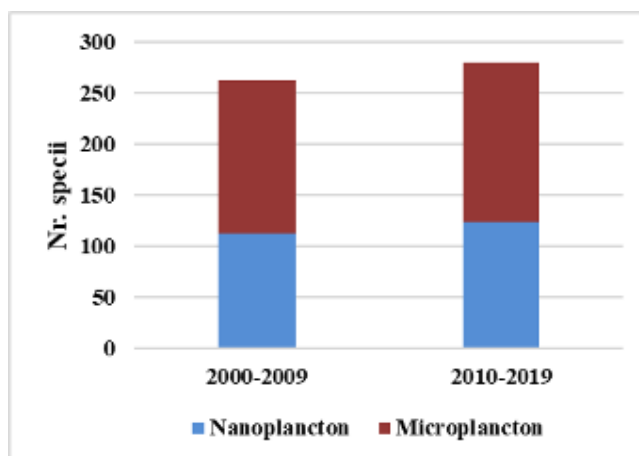


Fig. 47. Structura fitoplanctonului pe clase de mărimi în apele de mică adâncime din zona Mamaia, în ultimele două decenii

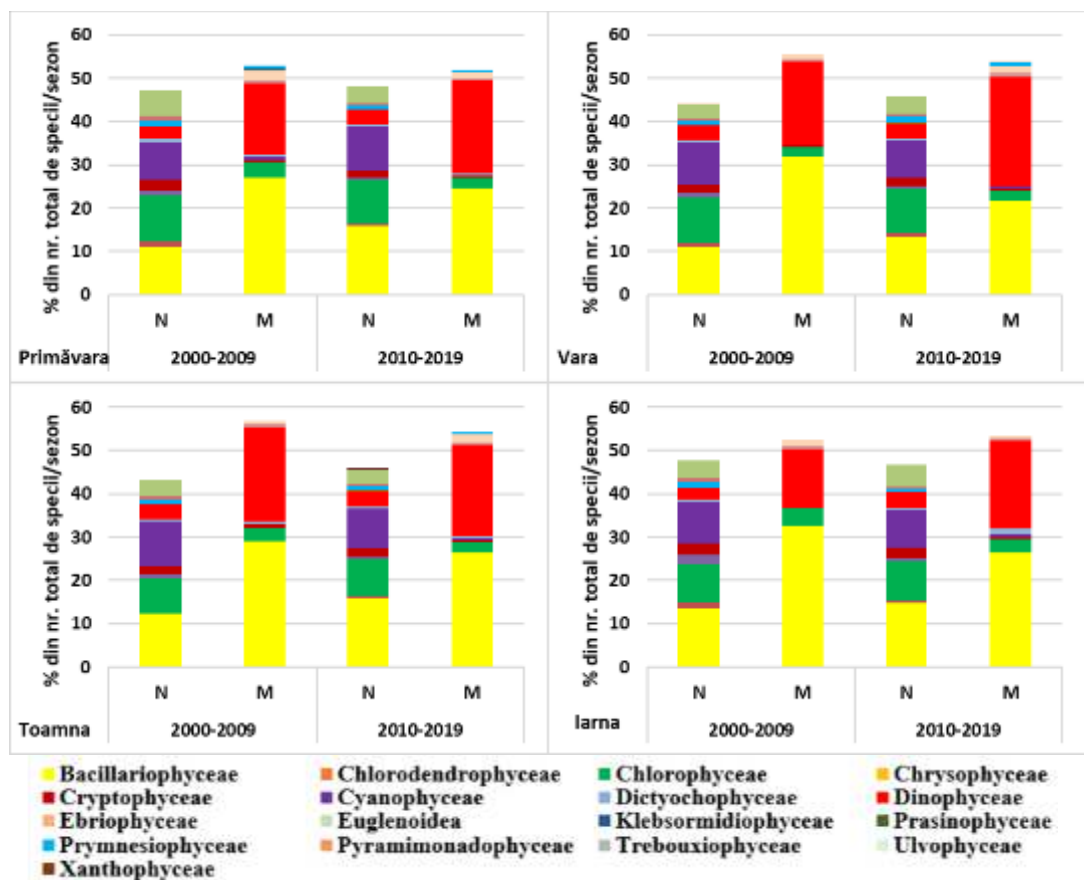


Fig. 48. Structura taxonomică sezonieră a fitoplanctonului în funcție de clasele de mărimi (N-nanoplancton, M-microplancton) întâlnite în apele de mică adâncime din zona Mamaia, din ultimele două decenii

Din punct de vedere al **compoziției ecologice** a fitoplanctonului din apele de mică adâncime din zona Mamaia din ultimele două decenii, au fost identificate **216 specii marine-salmastricole (MS)** și **136 specii dulcicole-salmastricole (DS)** (**Fig. 49**). **Contribuția speciilor MS a fost de peste 50%** (54-66%) în fiecare sezon din cele două perioade analizate. S-a observat o diferență mai mică (de 9%) între numărul de specii MS și DS din primăvara primului deceniu. În cea de-al doilea deceniu, diferențele dintre proporția numărului de specii din cadrul celor două clase ecologice sunt cuprinse între 31% (iarna) și 39% (toamna) (**Fig. 50**). Cele mai importante clase cu reprezentanți din grupul speciilor MS au fost *Bacillariophyceae* și *Dinophyceae*, iar dintre clasele cu reprezentanți din grupul speciilor DS au fost *Chlorophyceae*, *Bacillariophyceae*, *Cyanophyceae* și *Trebouxiophyceae* (**Fig. 50**).

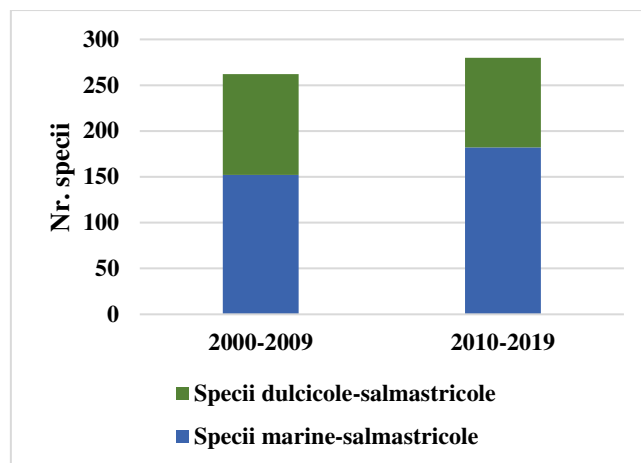


Fig. 49. Structura fitoplanctonului în funcție de grupele ecologice întâlnite în apele de mică adâncime din zona Mamaia, în ultimele două decenii

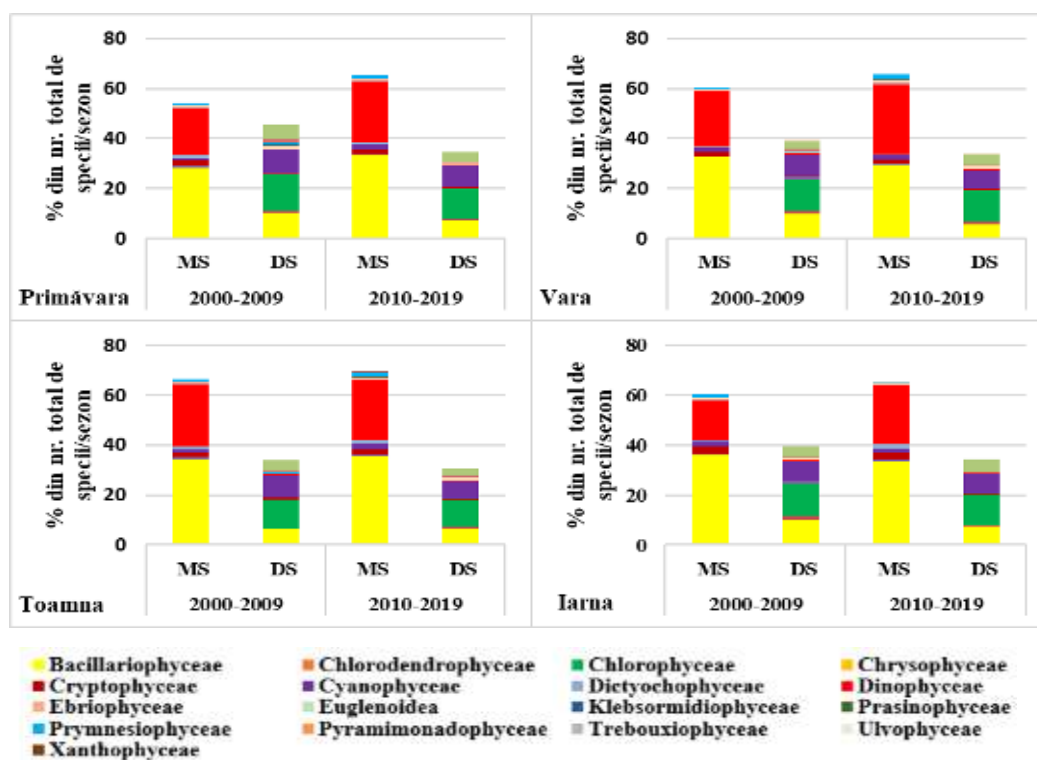


Fig. 50. Compoziția taxonomică procentuală sezonieră a grupelor ecologice din cadrul fitoplanctonului din apele de mică adâncime din zona Mamaia, din ultimele două decenii

5.2. ANALIZA CANTITATIVĂ A FITOPLANCTONULUI DIN APELE DE MICĂ ADÂNCIME DIN ZONA MAMAIA ÎN ULTIMELE DOUĂ DECENII

În cadrul acestui subcapitol, am prezentat variațiile cantitative multianuale și sezoniere, structura și dinamica anuală și sezonieră în funcție de clasele taxonomice din compoziția fitoplanctonului, de grupele funcționale și ecologice și în funcție de structura pe clase de mărimi din apele de mică adâncime din zona Mamaia. Am evidențiat contribuția fiecărei clase și a celor mai importante specii din structura sezonieră a fitoplanctonului din cele două perioade cu ajutorul analizei SIMPER (în Primer 7). Am prezentat semnificația statistică a diferențelor dintre structura taxonomică a grupelor funcționale și ecologice și a structurii pe clase de mărimi din cele două perioade analizate.

Tendința de reducere a cantităților de fitoplancton observată și de alți autori începând cu anul 1993 (Boicenco, 2017) s-a observat și în ultimii douăzeci de ani, perioada 2010-2019 fiind cea mai evidentă (**Fig. 53**). Declinul bazei piramidei trofice observat în ultimii 27 de ani produce perturbări în rețeaua trofică marină și efecte asupra ciclului carbonului. Pe lângă scăderea ratei de fixare a CO₂, scade și cantitatea de căldură absorbită de către fitoplancton și este redusă capacitatea microalgelor de a emite molecule de sulfat, care ajută la formarea norilor.

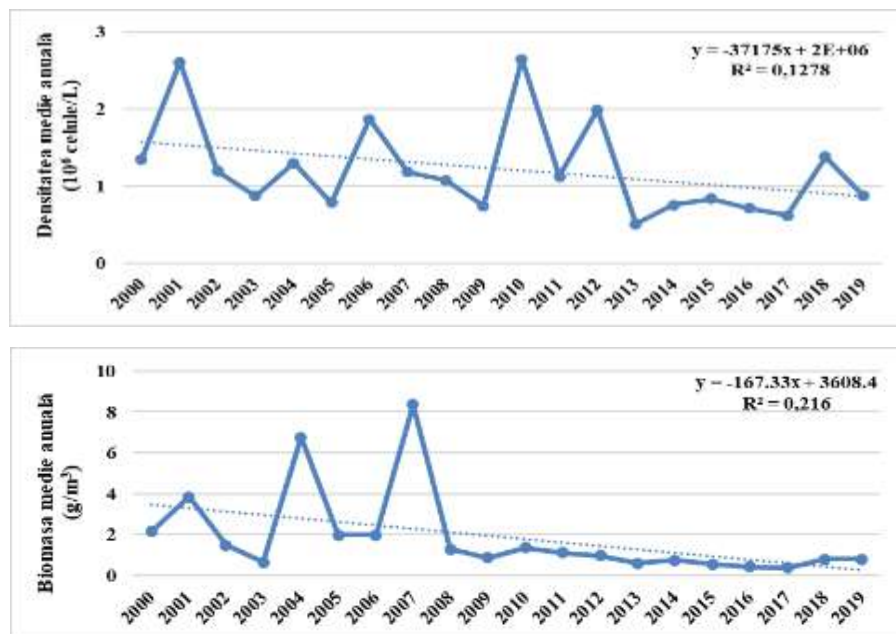


Fig. 53. Evoluția multianuală a densității și biomasei medii anuale a fitoplanctonului în apele de mică adâncime din zona Mamaia

Din analiza **structurii taxonomice** a fitoplanctonului din apele de mică adâncime din zona Mamaia a rezultat faptul că, în ultimele două decenii, **diatomeele** au reprezentat 65% respectiv 85% din **densitatea medie înregistrată în fiecare perioadă**. Au fost urmate de **cianobacterii** a căror contribuție a fost de 13% în primul deceniu analizat, scăzând ușor în următoarea perioadă (9%). Al treilea grup din structura fitoplanctonului în funcție de densitatea medie înregistrată în cele două decenii analizate a fost reprezentat de **dinoflagelate** cu 12%, respectiv 3%.

În **ultimii 10 ani**, s-a înregistrat o **creștere** a contribuției clasei **Cryptophyceae** (3%, cu densități medii anuale între $13,55 \cdot 10^3$ celule/L și $68,83 \cdot 10^3$ celule/L) față de perioada 2000-2009 (1%, cu densități medii anuale de până la $25,89 \cdot 10^3$ celule/L) și o **scădere** a contribuției claselor **Euglenoidea** (de la 4% la 1%) și **Chlorophyceae** (de la 2% la 1%) (**Fig. 58**). Contribuția celorlalte clase (*Chlorodendrophyceae*, *Chrysophyceae*, *Ebriophyceae*, *Klebsormidiophyceae*, *Prasinophyceae*, *Pyramimonadophyceae*, *Ulvophyceae* și *Xantophyceae*) a fost de sub 1% (0,24%, respectiv 0,63%) în ambele perioade (**Fig. 58**).

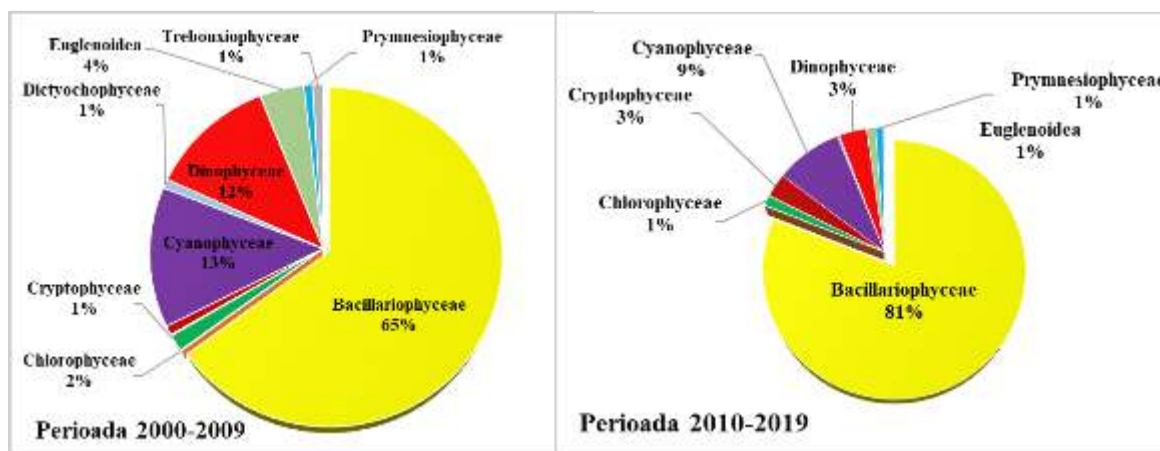


Fig. 58. Compoziția taxonomică procentuală a fitoplanctonului din apele de mică adâncime din zona Mamaia în funcție de densitatea medie înregistrată în ultimele două decenii

Din punct de vedere al structurii taxonomice a fitoplanctonului în funcție de **biomasa** medie s-a observat faptul că, **dinoflagelatele** au reprezentat **61 %** din valoarea medie din **prima perioadă** analizată, cu valori medii anuale cuprinse între $0,16 \text{ g/m}^3$ (2009) și $6,70 \text{ g/m}^3$ (2007), **contribuție care a scăzut în următoarea perioadă la 35%**, iar mediile anuale au variat între $0,13 \text{ g/m}^3$ (în 2017) și $0,58 \text{ g/m}^3$ (în 2011). **Diatomeele** au fost următorul grup ca importanță în funcție de biomasa medie **din perioada 2000-2009**, reprezentând **32 %** din total, înregistrând

valori medii anuale cuprinse între 0,22 g/m³ (în 2003) și 2,51 g/m³ (în 2001). Însă, **în perioada 2010-2019**, structura comunității fitoplanctonice s-a schimbat, **diatomeele** fiind dominante (**55%** din total), înregistrând valori medii anuale cuprinse între 0,20 g/m³ (în 2017) și 1,11 g/m³ (în 2010) (**Fig. 60**).

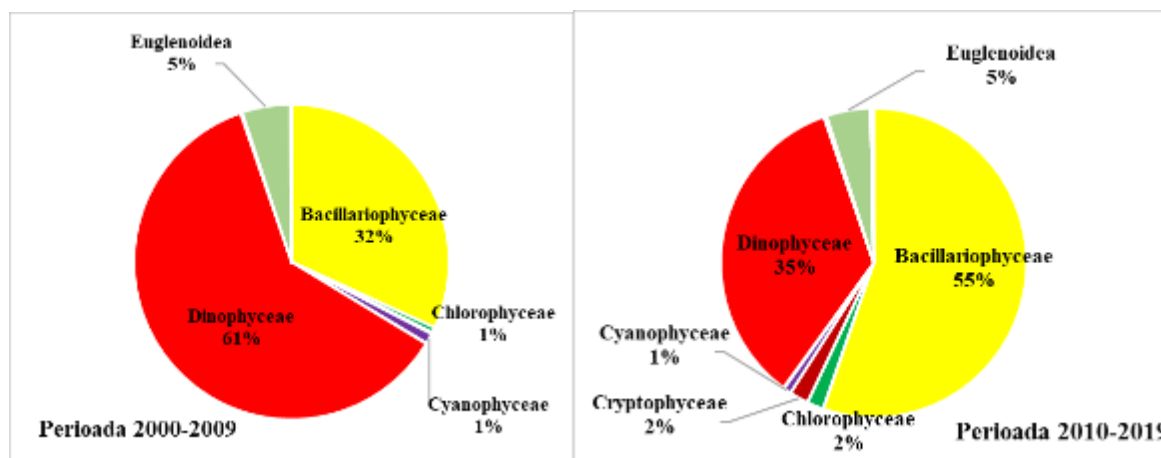


Fig. 60. Compoziția taxonomică procentuală a fitoplanctonului din apele de mică adâncime din zona Mamaia în funcție de biomasa medie înregistrată în ultimele două decenii

5.2.4. Structura sezonieră a fitoplanctonului din ultimele două decenii – Analiza SIMPER

Pentru analiza comparativă a structurii sezoniere a fitoplanctonului din cele două perioade s-a utilizat analiza SIMPER în PRIMER 7 (Clarke *et al.*, 2014). Analiza SIMPER se bazează pe calculul coeficientului de similitudine Bray-Curtis, arătând contribuția fiecărei clase/specii în ordine descendentă și contribuția cumulată la diferențele obținute pentru fiecare set de date. Analiza SIMPER clasifică mai întâi contribuțiile speciilor/claselor la similaritatea medie a probelor din fiecare perioadă, apoi la diferența medie dintre ambele perioade. Valorile diferențelor procentuale între perioade variază între 0 și 100, 100 fiind diferența maximă.

5.2.4.1. Structura comunităților fitoplanctonice din timpul primăverii din ultimele două decenii

Astfel, în urma analizei SIMPER în funcție de **densitatea medie lunară** corespunzătoare fiecărei clase din compoziția fitoplanctonului din sezonul de **primăvară**, a rezultat o diferență medie între cele două perioade de 46,80%. **Principala clasă care a determinat această**

diferență a fost *Bacillariophyceae*, contribuind cu 74,6% la diferența dintre cele două perioade, fiind urmată de clasa *Dinophyceae* (cu 13,9%) și *Cyanophyceae* (3,2%). Densitatea medie a diatomeelor din perioada 2010-2019, de peste două ori mai mare decât în perioada 2000-2009 s-a datorat în special **perioadei de maximă dezvoltare a diatomeei *Skeletonema costatum*** în cursul lunilor martie-aprilie, ceea ce a coincis cu o **dublare a raportului N/P**, de la 18 (în 2000-2009) la 36. **Cianobacteriile** au înregistrat o ușoară creștere, iar densitatea medie a **dinoflagelatelor** (*Gymnodinium aureolum*, *Kryptoperidinium triquetrum*, chiști ai genului *Peridinium*) a fost de **peste 10 ori mai mică în perioada 2010-2019** față de perioada 2000-2009. Astfel, **condițiile limitative de fosfor (N/P=36) din a doua perioadă** și o ușoară creștere a **silicaților au limitat dezvoltarea dinoflagelatelor și au favorizat înflorirea diatomeei *Skeletonema costatum***.

Aplicând analiza SIMPER pentru datele de **biomasă** între cele două perioade s-a observat o diferență medie mai mare (63,77%) decât cea obținută din datele de densitate (46,80%). Clasa responsabilă de 78% din această diferență a fost *Dinophyceae* (specii cu o greutate mai mare precum *Gymnodinium aureolum*, *Kryptoperidinium triquetrum*, chiști ai genului *Peridinium*), fiind urmată de *Bacillariophyceae* (*Skeletonema costatum*, *Cerataulina pelagica*, *Cyclotella caspia*, *Lauderia confervacea*), cumulând împreună cu dinoflagelatele 95,3%. În perioada **2010-2019**, s-a înregistrat o **reducere semnificativă a biomasei medii a dinoflagelatelor** și o **ușoară creștere a biomasei medii a diatomeelor** comparativ cu valorile din perioada 2000-2009, acestea fiind în strânsă legătură cu variațiile de densitate prezentate anterior.

5.2.4.2. Structura comunităților fitoplanctonice din timpul verii din ultimele două decenii

În urma analizei SIMPER pentru datele de **densitate medie lunară** corespunzătoare fiecărei clase din compoziția fitoplanctonului din sezonul de **vară**, a rezultat o diferență medie între cele două perioade de 45,50%. Principala clasă care a determinat această diferență a fost *Bacillariophyceae* cu 59,69% (reprezentată în special de *Nitzschia tenuirostris*, *Navicula* sp., *Chaetoceros socialis*, *Skeletonema costatum*), fiind urmată de clasele *Cyanophyceae* cu 14,75% (*Microcystis pulverea*), *Dinophyceae*, cu 9,74% (*Scrippsiella acuminata*) și *Euglenoidea* 7,33% (*Eutreptia lanowii*).

În perioada 2010-2019, densitățile și biomasele medii înregistrate de fiecare clasă au fost de două - trei ori mai **scăzute** decât valorile din perioada 2000-2009. Cauza acestor diferențe poate fi **creșterea temperaturii** medii lunare cu 1 - 2°C în lunile de vară, valori ale **pH-ului ușor mai ridicate** (cu până la 0,19 unități în iunie și august), valori mai ridicate ale **fosfaților** (cu 0,25-0,34 unități în iunie și iulie), ale **silicaților** (cu 1-3 unități) și ale **azotului anorganic dizolvat** (cu 1-5 unități). De asemenea, **raportul N/P a fost mai scăzut** în a doua perioadă (17-23), dar mai apropiat de raportul Redfield (16), considerat optim.

Analiza SIMPER pe baza biomaselor medii lunare pe clase taxonomice a arătat o diferență mai mică între cele două perioade (37,81%) decât rezultatul obținut în funcție de densitățile medii lunare (45,50%). Clasele care au contribuit cu până la 94% la diferența dintre cele două perioade au fost **Bacillariophyceae**, cu 48,51% (reprezentată în special de *Leptocylindrus danicus*, *Cerataulina bergonii*, *Tabellaria*, *Navicula* sp., *Nitzschia tenuirostris*), **Dinophyceae**, cu 29,13% (*Scrippsiella acuminata*, *Akashiwo sanguinea*, *Peridinium* (chiști), *Prorocentrum micans*, *P. cordatum*, *Protoperidinium granii*) și **Euglenoidea**, cu 16,7% (*Eutreptia lanowii*).

5.2.4.3. Structura comunităților fitoplanctonice din timpul toamnei din ultimele două decenii

În urma analizei SIMPER pentru datele de **densitate medie lunară** corespunzătoare fiecărei clase din compoziția fitoplanctonului din sezonul de **toamnă**, a rezultat o diferență medie între cele două perioade de 47,56%. **Diatomeele** au contribuit cu peste 50% la această diferență. Specia dominantă în prima perioadă analizată, *Cerataulina bergonii*, a fost înlocuită de specii precum *Nitzschia delicatissima*, *Skeletonema costatum*, *Chaetoceros socialis* și *Leptocylindrus minimus*. Alte grupe care au participat la diferențele înregistrate între cele două decenii, au fost **cianobacteriile** (cu 18,85%) prin reducerea densităților medii înregistrate (de la $40-70 \cdot 10^3$ cel./L la $0,3 \cdot 10^3$ cel./L (cazul *Aphanizomenon flosaquae* și *Microcystis aeruginosa*). Dintre **dinoflagelate**, se remarcă reducerea densităților înregistrate pentru *Peridinium* (chiști). Aceste rezultate au avut un impact și asupra biomasei (diferență de 69,36%), având în vedere faptul că speciile *Cerataulina pelagica* și *Peridinium* (chiști) sunt specii microfitoplanctonice, cu un biovolum mult mai mare decât celelalte diatomee dominante în perioada 2010-2019.

Aceste diferențe ar putea fi determinate de **raportul N/P**, care în lunile octombrie și noiembrie din perioada 2010-2019 a atins valoarea considerată optimă conform Redfield, în timp ce în perioada 2000-2009 erau condițiile limitative de azot (11-14). Un factor care ar putea limita dezvoltarea cianobacteriilor este **salinitatea**, care a crescut cu aproximativ o unitate în perioada 2010-2019.

5.2.4.4. Structura comunităților fitoplanctonice din timpul iernii din ultimele două decenii

În urma analizei SIMPER pentru datele de **densitate medie lunară** corespunzătoare fiecărei clase din compoziția fitoplanctonului din sezonul de **iarnă**, a rezultat o diferență medie între cele două perioade de 46,62%. **Diatomeele** (în special *Skeletonema costatum*) au contribuit cu 68,43% la această diferență, fiind urmate de **cianobacterii** (*Pseudanabaena limnetica*, *Aphanizomenon flosaquae*) cu 19,39%. În perioada 2010-2019, densitățile medii înregistrate de diatomee și cianobacterii au fost ușor mai scăzute decât valorile din perioada 2000-2009. Aceste diferențe se pot datora **reducerii** concentrațiilor de **silicați** cu 2-4 unități și **condițiilor limitative de azot mai accentuate** în decembrie și ianuarie.

Din punct de vedere al **biomasei**, diferența între cele două perioade a fost mai mare (69,36%) comparativ cu rezultatele analizei SIMPER pentru densitate (46,62%). **Dinoflagelatele** (*Akashiwo sanguinea*, *Peridinium* (chiști) și *Protoperidinium granii*) au contribuit cu 50,75% la această diferență, fiind urmate de **diatomee** (*Skeletonema costatum*, *Thalassiosira nordenskioldii* v. *aestivalis*) cu 25,94% și **euglenoide** (*Eutreptia lanowii* și *Euglena gracilis*) cu 11,63%. În sezonul de iarnă din perioada 2010-2019, biomasele medii înregistrate de clasele menționate anterior au fost mai scăzute decât valorile din perioada 2000-2009 din același sezon.

5.2.5. Evoluția densității și biomasei grupelor funcționale în ultimele două decenii

Valorile medii anuale ale fitoplanctonului **autotrof** au oscilat între $131,28 \cdot 10^3$ celule/L (în 2013) și $2,55 \cdot 10^6$ celule/L (în 2010) și $0,20 \text{ g/m}^3$ (în 2017) și $3,23 \text{ g/m}^3$ (în 2001), înregistrând în cinci ani valori de peste 10^6 celule/L. Fitoplanctonul **heterotrof** a înregistrat valori mai **scăzute** în ceea ce privește **densitatea**, de până la $16,04 \cdot 10^6$ celule/L, însă mult mai **ridicate** în ceea ce privește **biomasa** (până la 534 g/m^3), maximele fiind înregistrate în noiembrie 2004. Heterotrofele au prezentat oscilații mai mari în perioada 2000-2007, cu valori cuprinse între $92,31 \cdot 10^3$ celule/L (în 2003) și $577,44 \cdot 10^3$ celule/L (în 2007) și $0,40 \text{ g/m}^3$ (în 2006) și $9,99 \text{ g/m}^3$

(în 2004). Între anii 2008-2019, valorile medii anuale ale heterotrofelor au scăzut sub $150 \cdot 10^3$ celule/L și 1 g/m^3 (**Fig. 66**).

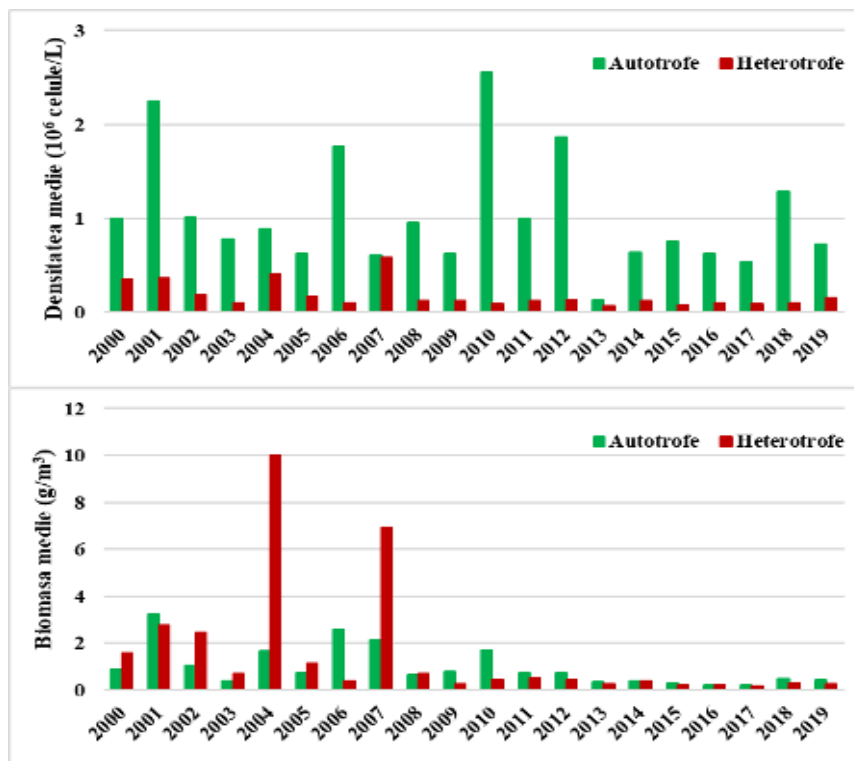


Fig. 66. Evoluția multianuală a densității și biomasei medii anuale a grupelor funcționale ale fitoplanctonului în apele de mică adâncime din zona Mamaia

Dominanța speciilor **autotrofe** s-a reflectat și din punct de vedere al **densităților** medii lunare înregistrate **în ambele perioade**, situație caracteristică pentru zona studiată, ținând cont de condițiile de iluminare. S-a observat o **creștere a diversității heterotrofelor în ultimii 10 ani comparativ cu deceniul anterior**, numărul maxim fiind înregistrat vara, creștere datorată reducerii cantităților fitoplanctonice comparativ cu perioada 2000-2009.

Din punct de vedere al **raportului autotrofe:heterotrofe** în funcție de **biomasa** medie sezonieră a fitoplanctonului (**Fig. 69**) s-au observat **modificări majore în ultimii 10 ani** comparativ cu perioada 2000-2009 în care dinoflagelatele au fost dominante în fiecare sezon. Astfel **dominanța fitoplanctonului autotrof** din timpul primăverii, al toamnei și al iernii din perioada 2010-2019 reprezintă **un pas important spre un ecosistem mai echilibrat și mai productiv datorită raportului mai mare al prăzii decât al prădătorilor**.

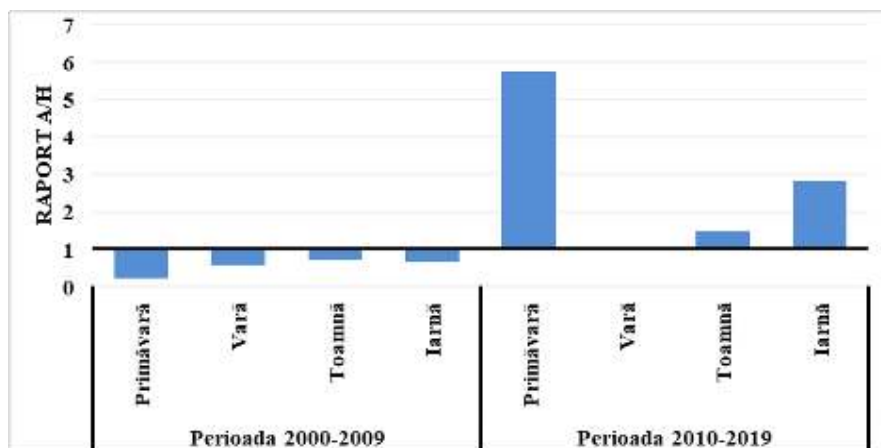


Fig. 69. Raportul autotrofe:heterotrofe în funcție de biomasa medie sezonieră înregistrată în apele de mică adâncime din zona Mamaia în ultimele două decenii

5.2.6. Evoluția densității și biomasei nano și microfitoplanctonului din ultimele două decenii

În perioada 2000-2019, valorile medii anuale ale nanofitoplanctonului au oscilat între $90,36 \cdot 10^3$ celule/L (în 2013) și $2,24 \cdot 10^6$ celule/L (în 2010) și $0,10 \text{ g/m}^3$ (în 2009) și $0,75 \text{ g/m}^3$ (în 2010), înregistrând în cinci ani valori de peste 10^6 celule/L. Din punct de vedere al densității medii anuale, microfitoplanctonul a depășit un 10^6 celule/L numai în 2001, iar în perioada 2010-2019, valorile au fost sub $500 \cdot 10^3$ celule/L. Biomasele medii anuale ale microfitoplanctonului au fost cuprinse între $0,24 \text{ g/m}^3$ și $114,60 \text{ g/m}^3$, prezentând variații mai mari în perioada 2000-2007 (**Fig. 70**).

Deși **diversitatea speciilor microfitoplanctonice a fost mai mare** (57% din total), din punct de vedere al **densității** s-a observat **înlocuirea microfitoplanctonului cu nanofitoplancton fiind o problemă întâlnită la nivel mondial datorită creșterii temperaturii**. Însă, din punct de vedere al **biomasei**, deși mult redusă comparativ cu **perioada 2000-2009**, contribuția microfitoplanctonului în biomasă a fost sub 50% numai în lunile februarie, martie și aprilie, luni în care abundența speciilor nanofitoplanctonice a fost suficient de mare încât să compenseze diferența de biovolum dintre cele două clase de **mărimi**. Rezultatele diferite obținute în funcție de densitate și biomasă se datorează capacității nanofitoplanctonului de a poseda o eficiență mai mare de absorbție a nutrienților, respectiv o multiplicare mai rapidă.

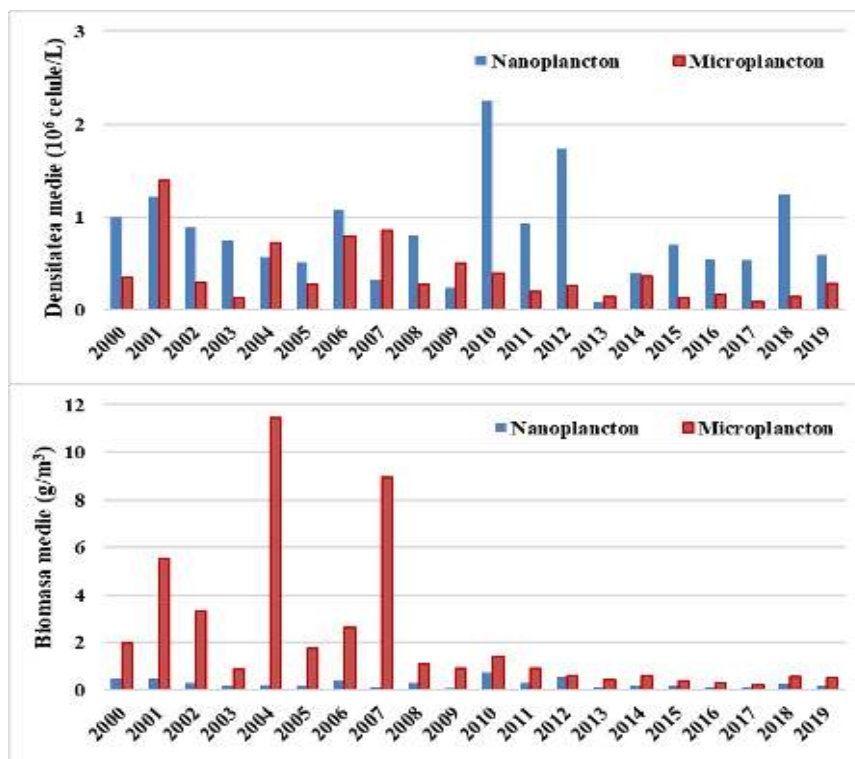


Fig. 70. Evoluția multianuală a densității și biomasei medii anuale a nano și microfitoplanctonului în apele de mică adâncime din zona Mamaia în ultimele două decenii

5.2.7. Evoluția densității și biomasei grupelor ecologice din cadrul fitoplanctonului din apele de mică adâncime din zona Mamaia în ultimele două decenii

În perioada 2000-2019 valorile medii anuale ale microalgelor marine-salmastricole (MS) din apele de mică adâncime din zona Mamaia au oscilat între $137,30 \cdot 10^3$ celule/L (în 2013) și $2,54 \cdot 10^6$ celule/L (în 2001) și $0,35 g/m^3$ (în 2017) și $11,63 g/m^3$ (în 2004). Categoria MS a înregistrat în opt ani valori de peste 10^6 celule/L, în special în perioada 2000-2012, după care valorile medii anuale au scăzut sub acest prag. În ceea ce privește categoria dulcicole-salmastricole (DS), valorile medii anuale au fost mult mai reduse, cuprinse între $32,28 \cdot 10^3$ celule/L (în 2011) și $84,52 \cdot 10^3$ celule/L (în 2002) și $0,012 g/m^3$ (în 2011) și $0,29 g/m^3$ (în 2010) (Fig. 73).

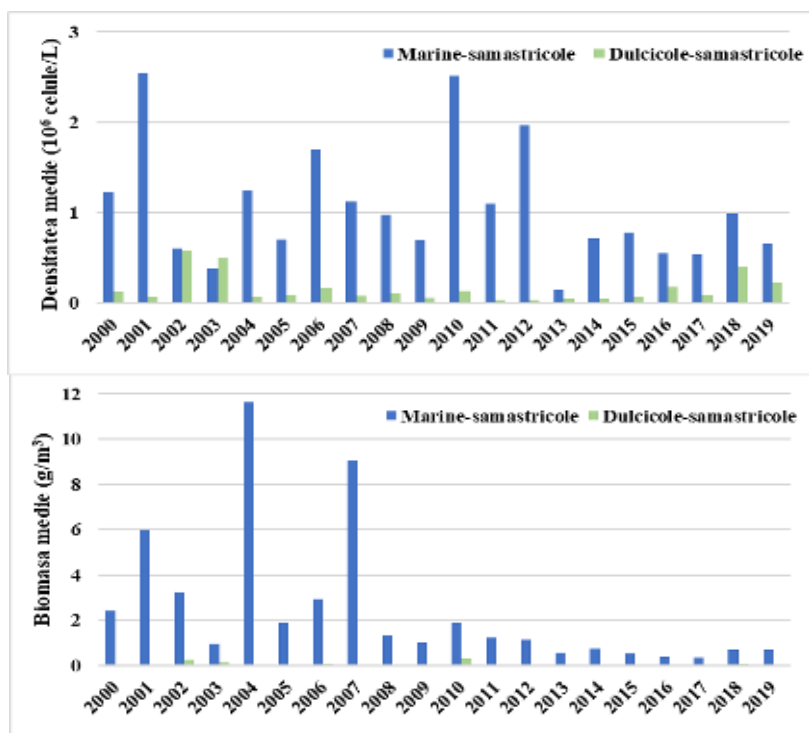


Fig. 73. Evoluția multianuală a densității și biomasei medii anuale a grupelor ecologice ale fitoplanctonului în apele de mică adâncime din zona Mamaia în ultimele două decenii

Astfel, în ultimele două decenii comunitatea fitoplanctonică din apele de mică adâncime din zona Mamaia a fost **preponderent reprezentată de microalge marine-salmastricole** adaptate la condițiile medii de salinitate din zonă și sporadic, au apărut înfloriri ale unor specii dulcicole-salmastricole, favorizate de condiții limitative de fosfor și, uneori, de salinitatea mai scăzută (11-13 psu).

5.3. STUDII EXPERIMENTALE

În urma **analizei fitoplanctonului din apele de mică adâncime din zona Mamaia** a rezultat faptul că **modificările** majore din structura comunității din ultimii 20 de ani au fost cauzate în special de creșterea **temperaturii** și a **variațiilor raportului N/P**. Pentru o interpretare mai **precisă** a rezultatelor obținute în urma analizei fitoplanctonului din apele de mică adâncime din zona Mamaia **am testat aceste ipoteze în experimente în condiții controlate** de laborator. Materialul biologic folosit a fost specia de diatomee *Skeletonema costatum*, specie reprezentativă și dominantă în comunitatea fitoplanctonică, pe care am izolat-o din apele de mică adâncime din zona Mamaia și care poate servi drept reper pentru comportamentul fitoplanctonului în condițiile modificărilor climatice actuale. Am prezentat în cadrul acestui subcapitol o abordare experimentală privind influența **variațiilor de temperatură și nutrienți (azot și fosfor)** asupra dezvoltării diatomeei *Skeletonema costatum* și **potențialul de valorificare** al speciei.

Abordând aspectele ecofiziologice ale speciei *S. costatum* studiate atât în mediul natural, cât și în experimentele de laborator, se evidențiază faptul că această specie, responsabilă de cel mai intens și mai lung proces anual de înflorire a fitoplanctonului în special din ultimii 10 ani, are capacități impresionante de a tolera diferite raporturi de nutrienți (la ambele limite) și intervale mari de temperatură. În 1987, Dorgham *et al.* a semnalat *S. costatum* ca specie **indicatoare de eutrofizare** în apele costiere ale Alexandriei, precizând faptul că și alți autori precum Smayda (1965), Purcher-Petrovic și Marasovic (1980), Mihnea (1985) și Revelante și Gilmartin (1985) au susținut această informație. **Alte specii indicatoare de eutrofizare** sunt *Nitzschia closterium*, *Cerataulina pelagica* și *Prorocentrum micans* (Dorgham *et al.*, 1987).

Astfel, consider că *S. costatum* este **specie oportunistă, cu un potențial ridicat de a provoca înfloriri dăunătoare la nivel mondial**. Este important de remarcat faptul că adesea înfloririle produse de această specie au dus la **reducerea diversității fitoplanctonului**, la **mortalități în rândul peștilor** și la **dezechilibre în raportul nutrienților** din coloana de apă. Surprinderea variabilității naturale în timp și spațiu a comunităților fitoplanctonice necesită o frecvență adecvată de monitorizare la întregul bazin al Mării Negre pentru a avansa în înțelegerea factorilor declanșatori ai înfloririlor (Moncheva *et al.*, 2019).

Deși în mediul natural capacitatea rapidă de multiplicare a microalgelor poate avea efecte multiple asupra altor nivele trofice (Bodeanu, 2002), în **biotehnologii**, această capacitate a microalgelor este explorată ca resursă regenerabilă și pentru valorificarea produselor secundare rezultate din acest proces. Ca resursă regenerabilă, am abordat acest aspect printr-un studiu teoretic și experimental privind utilizarea biomasei speciei *S. costatum* pentru a produce biodiesel (Culcea *et al.*, 2018). Acest studiu a fost **prima încercare de a obține biodiesel folosind biomasa unei microalge comune, izolată din Marea Neagră** (apele de mică adâncime din zona Mamaia). Astfel, specia de diatomee *S. costatum* poate fi considerată o specie cu **potențial în producția de biodiesel** datorită ciclului de dezvoltare rapid, a condițiilor de creștere ușor de menținut atât în laborator cât și în sisteme speciale și a concentrației ridicate a lipidelor din biomasa uscată (12-51%) (Culcea *et al.*, 2018).

Microalgele au devenit unele dintre cele mai promițătoare și inovatoare surse de produse alimentare și farmaceutice datorită compușilor bioactivi precum vitamine, aminoacizi esențiali, acizi grași polinesaturați, minerale, carotenoizi, enzime și fibre (Matos, 2017). Mai multe studii privind cercetările farmacologice au evidențiat faptul că stresul oxidativ și cantitățile crescute de radicali liberi sunt caracteristici ale bolilor cronice, inclusiv cancerul, îmbătrânirea și bolile neurodegenerative, cum ar fi Alzheimer și Parkinson și bolile cardiovasculare, cum ar fi ateroscleroza.

Compușii fenolici sunt metaboliți secundari distribuiți pe scară largă în plante și au potențialul de a preveni apariția multor boli degenerative. Acești compuși sunt descriși ca eliminatori de radicali, având capacitatea de a preveni diferite procese de stres oxidativ (Jerez-Martel *et al.*, 2017). Au fost identificați compuși fenolici în biomasa mai multor specii de clorofite (*Ankistrodesmus* sp., *Spirogyra* sp.), euglenoide (*Euglena cantabrica*) și cianobacterii (*Nostoc commune*) (Jerez-Martel *et al.*, 2017). Există studii care evidențiază concentrații mai mari de polifenoli în microalgelor (*Chlorella* sp., *Phaeodactylum tricornutum*) cultivate în condiții de stres (concentrațiile scăzute de azot, concentrații mai mare de fier și cupru (Aremu *et al.*, 2016, Rico *et al.*, 2013).

În studiul prezent **conținutul de acid tanic (un tip de polifenol) determinat** prin metoda HPLC în extractul metanolic de *Skeletonema costatum* (**Fig. 85**) a fost de **0,46%** (0,46 mg acid tanic/g biomasă). Deși am obținut o concentrație mică comparativ cu alte rezultate disponibile (*Euglena tuba* – 5,6%, Chaudhuri *et al.*, 2014) prezența acidului tanic în extractul

metanolic justifică continuarea cercetărilor cu studii biologice pentru a pune în evidență activitatea antioxidantă și antimicrobiană a algei *S. costatum*, dar și pentru a îmbunătăți metoda de lucru privind momentul de recoltare a biomasei, expunerea speciei la condiții care determină o concentrație mai mare de polifenoli, dar și pentru a obține rezultate comparabile cu alte studii. În cromatogramă se observă prezența și a altor compuși organici separați, dar neidentificați, care pot contribui la potențialul terapeutic al extractului metanolic.

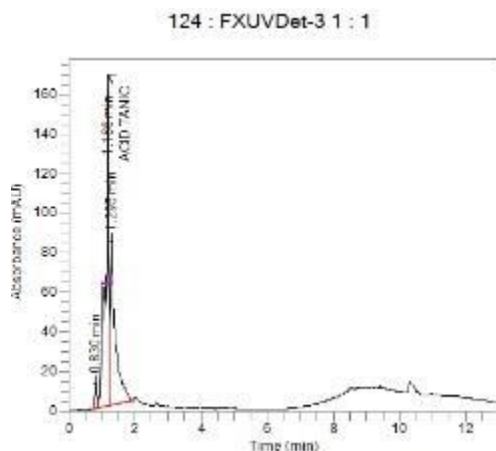


Fig. 85. Cromatograma soluției de *S. costatum*

(grafic Conf. univ. dr. Bucur L.)

O altă aplicație a speciei *S. costatum* pentru care există un standard în Organizația Internațională de Standardizare (ISO 10253:2016) este utilizarea acestei specii ca **material biologic** pentru determinarea toxicității unor produși chimici și amestecuri de produși chimici. Începând cu anul 2014 am avut ocazia de a participa și de a îmbunătăți acest tip de studii în cadrul unor contracte private ale INCDM „Grigore Antipa”, activitate care se desfășoară și în prezent. Aceste studii furnizează date privind prevenirea unor potențiale accidente ce pot avea loc în timpul activităților de explorare și exploatare petrolieră desfășurate în Marea Neagră și pentru luarea măsurilor de protecție a ecosistemului marin.

VI. CONCLUZII

În urma analizei și interpretării a 1797 de probe de fitoplancton din ultimele două decenii colectate din apele de mică adâncime din zona Mamaia și a experimentelor efectuate în condiții controlate de laborator, au rezultat următoarele:

- În ultimele două decenii, în **stația din apele de mică adâncime din zona Mamaia** au fost identificate **352** de specii, varietăți și forme de microalge aparținând la 17 clase taxonomice. Se remarcă dominanța diatomeelor fiind urmate de dinoflagelate, de clorofite și de cianobacterii, situație constantă pentru cele două decenii.
- **Tendința generală privind diversitatea fitoplanctonului din ultimii 20 de ani a fost pozitivă** pe fondul modificărilor survenite în parametrii fizico-chimici ai apelor marine și a schimbărilor climatice. **Reducerea densității și biomasei fitoplanctonice** este posibil să fi influențat acest proces, la fel ca și creșterea cu **24%** a **dinoflagelatelor** identificate în sezonul de vară din ultimii 10 ani, creșterea **frecvenței de prelevare** a probelor, utilizarea unor **microscopie mai performante și exercițiilor de intercalibrare** cu experți din țările riverane Mării Negre.
- **Tendința de reducere cantitativă a fitoplanctonului** observată și de alți autori începând cu anul 1993 s-a observat și în ultimii douăzeci de ani, **perioada 2010-2019 fiind cea mai evidentă**.
- Din punct de vedere al grupelor funcționale, speciile **autotrofe** au fost **dominante** din punct de vedere **calitativ și cantitativ în ambele perioade**, situație caracteristică pentru stratul eufotic. S-a observat o **creștere a diversității heterotrofelor în ultimii 10 ani comparativ cu deceniul anterior**, numărul maxim fiind înregistrat vara, odată cu creșterea diversității dinoflagelatelor (specii heterotrofe) și reducerea cantităților fitoplanctonice comparativ cu perioada 2000-2009.
- Din punct de vedere al **raportului autotrofe:heterotrofe** în funcție de **biomasa** medie sezonieră a fitoplanctonului s-au observat **modificări majore în ultimii 10 ani** comparativ cu perioada 2000-2009 în care dinoflagelatele au fost dominante în fiecare sezon. Astfel **dominanța fitoplanctonului autotrof** din timpul primăverii, al toamnei și al iernii din perioada 2010-2019 reprezintă **un pas important spre un ecosistem mai echilibrat și mai productiv datorită raportului mai mare al prăzii decât al prădătorilor**.
- Deși **diversitatea speciilor microfitoplanctonice a fost mai mare (57% din total)**, din punct de vedere al **densității** s-a observat **înlocuirea microfitoplanctonului cu nanofitoplancton fiind o problemă întâlnită la nivel mondial datorită creșterii temperaturii**. Cu toate acestea, din punct de vedere al biomasei, contribuția microfitoplanctonului a fost de peste 50% în perioadele cu ape mai calde deoarece speciile nanoplanctonice nu au reușit să compenseze diferența de biovolum dintre cele două clase de mărimi.
- Din punct de vedere al grupelor ecologice, **comunitatea fitoplanctonică din apele de mică adâncime din zona Mamaia a fost preponderent reprezentată de microalge marine-salmastricole** adaptate la condițiile medii de salinitate din zona de studiu și, sporadic, au

- apărut înfloriri ale unor specii dulcicole-salmastricole, favorizate de condiții limitative de fosfor și, uneori, de salinitatea mai scăzută (11-13 psu).
- Modificările din ultimii 10 ani din sezonul de **primăvară**, precum condițiile limitative de **fosfor** (N/P=36) și o ușoară creștere a **silicaților au limitat dezvoltarea dinoflagelatelor și au favorizat înflorirea diatomeelor** (în special *S. costatum*).
 - **Creșterea temperaturii** medii lunare cu 1 - 2°C în lunile de **vară**, valorile mai ridicate ale **pH-ului**, ale **fosfaților**, ale **silicaților** și ale **azotului anorganic dizolvat** alături de **raportul N/P mai scăzut din ultimii 10 ani**, dar mai apropiat de raportul Redfield au dus la **densități și biomase medii de 2-3 ori mai reduse comparativ cu perioada 2000-2009**.
 - **Reducerea densității și a biomasei comunității fitoplanctonice** a fost întâlnită și în sezonul de **toamnă din ultimul deceniu**. Această modificare a coincis cu un **raport N/P optim** conform Redfield, în timp ce în perioada 2000-2009 erau **condiții limitative de azot (11-14)**.
 - **Reducerea densității și a biomasei comunității fitoplanctonice** din sezonul de **iarnă** s-a datorat **reducerii concentrațiilor de silicați și a condițiilor limitative de azot mai accentuate în ultimii 10 ani comparativ cu deceniul anterior**.
 - În urma analizei fitoplanctonului din apele de mică adâncime din zona Mamaia a rezultat faptul că **modificările majore** din structura comunității din ultimii 20 de ani au fost cauzate în special de **creșterea temperaturii și a variațiilor raportului N/P**.
 - Pentru o **interpretare mai precisă** a rezultatelor obținute în urma analizei fitoplanctonului din apele de mică adâncime din zona Mamaia **am testat aceste ipoteze în experimente efectuate în condiții controlate de laborator, prin care am adus noi contribuții personale la comportamentul speciei *Skeletonema costatum* în condițiile unor variații de temperatură și nutrienți**.
 - În urma expunerii speciei *Skeletonema costatum* la **variații de temperatură** a rezultat faptul că are **o toleranță ridicată** pentru temperaturi cuprinse între **8°C și 20°C** și o **preferință pentru intervalul de 18 - 19°C** comparativ cu temperaturi mai scăzute, cuprinse între 8°C și 17°C.
 - În urma expunerii la raporturi diferite de **azot:fosfor s-a evidențiat toleranța ridicată** a speciei, fiind obținute curbele de creștere și rate de creștere ridicate în toate condițiile testate. **O diferență semnificativă** s-a observat în **condiții limitative de fosfor**, care, și în acest caz, au stimulat **o amplă dezvoltare a diatomeei *S. costatum*** comparativ cu condițiile limitative de azot sau condițiile optime. Rezultatele obținute evidențiază **riscul ridicat al raporturilor azot:fosfor dezechilibrate asupra dezvoltării diatomeei *S. costatum***, fiind un factor important în înfloririle intense.
 - **Abordând aspectele ecofiziologice ale *S. costatum* studiate atât în mediul natural, cât și în experimentele de laborator, consider că specia *S. costatum*, cunoscută ca specie indicatoare de eutrofizare, poate fi considerată și o specie oportunistă, cu un potențial ridicat de a provoca dezechilibre în ecosistemul marin datorită capacității impresionante de a tolera diferite raporturi de nutrienți (la ambele limite) și intervale mari de temperatură.**

- Rezultatele obținute în urma experimentelor au demonstrat **potențialul de utilizare al diatomeei *Skeletonema costatum* în biotehnologii** (producerea de **biodiesel**) și **în industria cosmetică și farmaceutică** (prin prezența **acidului tanic** în extractul metanolic). Acestea au fost **primele încercări de valorificare a biomasei unei specii de microalge izolată din apele costiere de la litoralul românesc al Mării Negre (*S. costatum*)**, în condiții controlate de laborator.

Ca o concluzie generală, putem afirma că modificările majore din structura comunității fitoplanctonice din ultimii 20 de ani au fost cauzate în special de creșterea temperaturii și a variațiilor raportului N/P. Creșterea diversității și reducerea cantitativă a fitoplanctonului din apele costiere de la litoralul românesc al Mării Negre din ultimii 10 ani, sunt dovezi clare ale eforturilor depuse în vederea limitării eutrofizării odată cu aderarea României la Uniunea Europeană (2007). Continuarea cercetării fitoplanctonului, îmbunătățirea permanentă a metodelor de analiză și achiziția de date privind tendința de evoluție, compoziția taxonomică și distribuția spațială prin utilizarea instrumentelor moderne sunt aspecte esențiale în scopul dobândirii continue de informații privind starea actuală a bazei piramidei trofice, componentă importantă, de asemenea, și pentru evaluarea stării de calitate a ecosistemului marin conform cerințelor directivelor europene, precum Directiva Cadru Strategia pentru Mediul Marin (DCSMM) și Directiva Cadru-Apă (DCA).

VII. BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Andersen, R. A., 2005. Algal Culturing Techniques. Burlington, Mass: Elsevier/Academic Press.
2. Antipa, G., 2010. Marea Neagră. Vol.I. Oceanografia, bionomia si biologia generala a Marii Negre, Iasi, TipoMoldova, 978-973-168-424-6.
3. Bacescu, M., M.-T.Gomoiu, N. Bodeanu, A. Petran, G. Muller, V. Chirila, 1967 – Dinamica populațiilor animale și vegetale din zona nisipurilor fine de la nord de Constanța în condițiile anilor 1962-1965. Ecologie Marină, 2: 7-168.
4. Bodeanu, N., 1969. Cercetări asupra fitoplanctonului din zona de mică adâncime de la litoralul românesc al Mării Negre. Ecologie Marina III: 65-148. Academia Republicii Socialiste Romania: Bucuresti.
5. Bodeanu, N., 2002. Algal Blooms in Romanian Black Sea Waters in the Last Two Decades of the XXth Century. Marine Research, 34, 7.
6. Boicenco, L., 2017. Influența apelor Dunării asupra fitoplanctonului din apele costiere de la litoralul românesc al Mării Negre, Ed. Ex Ponto, Constanta, ISBN 978-606-598-557-5.
7. Cărăuș I., 2012. Algae of Romania. A distributional checklist of actual algae. Stud.Cerc.Biol., Univ.Bacău; 2002, 7 :1-809; version 2.3 – third revision.
8. Chisti, Y., 2007. Biodiesel from microalgae. Biotechnol Adv. 2007 May-Jun;25(3):294-306. doi: 10.1016/j.biotechadv.2007.02.001. Epub. PMID: 17350212.
9. **Culcea, O.**, 2017. Isolation and Maintenance Methods for *Skeletonema costatum* in Laboratory Cultures. Revista Cercetări Marine - Revue Recherches Marines - Marine Research Journal, 47(1), 156-165.
10. **Culcea, O.**, Nicolaev, S., Rosioru, D. M., Fagaras, M. M., Boicenco, L., 2018. First attempt to use the biomass of important Black Sea diatom for biodiesel production, Journal of Environmental Protection and Ecology 19, No 3, ISSN 1311-5065.
11. Dorgham, M.M., El-Samra, M.I., Mostafa, T.H., 1987. Phytoplankton in an area of multi polluting factors, west of Alexandria, Egypt. Qatar University Science Bulletin 7: 393-419.
12. Ghezehegn, S. G., Steef, P., Hommersom, A., De Reus, N., **Culcea, O.**, Krommendijk, B., 2014. Hyperspectral remote sensing for estimating coastal water quality: case study on coast of Black Sea, Romania, Proc. SPIE 9239, Remote Sensing for Agriculture, Ecosystems, and Hydrology XVI, 923913; <https://doi.org/10.1117/12.2067415>
13. ISO 10253:2016. Water Quality - Marine algal growth inhibition test with *Skeletonema costatum* and *Phaeodactylum tricornutum*.
14. Kinne, O., 1971. Marine Ecology, Vol-I, Wiley interscience, London, pp. 821.
15. Lazăr L., Gomoiu M.- T., Vasiliu D., Timofte F., 2010. Variability of inorganic nitrogen forms in Romanian Black Sea marine and coastal waters- Cercetari Marine, Vol.39, pp.73-87.
16. Lazăr, L., Boicenco, L., Marin, O., **Culcea, O.**, Pantea, E., Bișinicu, E., Timofte, F., & Mihailov, M.-E., 2018. Black Sea Eutrophication Dynamics from Causes to Effects. Cercetări Marine - Recherches Marines, 48(1), 100-117.
17. Lazăr, L., Boicenco, L., Marin, O., **Culcea, O.**, Pantea, E., Bișinicu, E., Timofte, F., Abaza, V., Spînu, A., 2019. Black Sea Eutrophication Status - the Integrated Assessment Limitations and Obstacles. Cercetări Marine - Recherches Marines, 49(1), 57-73.
18. Marin, O., Abaza, V., Bișinicu, E., Boicenco, L., Coatu, V., Galațchi, M., Lazăr, L., Oros, A., Pantea, E., Tabarcea, C., Țiganov, G., & **Vlas, O.**, 2020. Performing First Integrative Evaluation of the Ecological Status of Romanian Black Sea Waters Using Nested Environmental Status Assessment Tool. *Cercetări Marine - Recherches Marines*, 50(1), 108-125.
19. Mihailov, M.E., Nicolaev, S., Buga, L., Jelescu, S., Boicenco, L., Spinu, A.D., Lazar, L., **Vlas, O.**, Tabarcea, C., Ganea, G., 2014. Identification of the Romanian Black Sea water types - assessment related to the Marine Strategy Framework Directive implementation, 14th

- International Multidisciplinary Scientific GeoConference, SGEM 2014 Conference Proceedings, Book 3, Vol. 2, ISBN 978-619-7105-14-8 / ISSN 1314-2704.
20. Moncheva, S., Boicenco, L., Mikaelyan, A. S., Zotov, A., Dereziuk, N., Gvarishvili, C., Slabakova, N., Mavrodieva, R., **Vlas, O.**, Pautova, L. A., Silkin, V. A., Medinets, V., Sahin, F., Feyzioglu, A. M., 2019. State of the Environment of the Black Sea (2009-2014/5), The State and Dynamics of the Biological Community – Phytoplankton. Publications of the Commission on the Protection of the Black Sea Against Pollution (BSC), Istanbul, Turkey, 225-283, ISBN 978-605-84837-0-5.
 21. Moncheva, S., Doncheva, V., Boicenco, L., Sahin, F., Slabakova, N., **Culcea, O.**, 2014. Report on the MISIS cruise Intercalibration Exercise: Phytoplankton, 44 pp. ISBN: 978-606-598-359-5.
 22. Moncheva, S., 2008. Manual for Phytoplankton Sampling and Analysis in the Black Sea.
 23. Oguz, T., Gilbert, D., 2007. Abrupt transitions of the top-down controlled Black Sea pelagic ecosystem during 1960–2000: Evidence for regime-shifts under strong fishery exploitation and nutrient enrichment modulated by climate-induced variations. Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers, Volume 54, Issue 2, February 2007, Pages 220–242.
 24. Redfield, A.C., 1958. The Biological Control of Chemical Factors in the Environment. American Scientist, 46, 205-221.
 25. Reynolds, C.S., 2006. The ecology of phytoplankton. Cambridge University Press, Cambridge, 535 pp.
 26. Skolka, H. V., 1967. Considerații asupra variațiilor calitative și cantitative ale fitoplanctonului litoralului românesc al Mării Negre. Ecologie Marină, 2: 193-248.
 27. Skolka, H.V., Bodeanu, N., 1971. Les associations macro et microvégétales de la partie nord-ouest de la mer Noire. Rapp.Comm.int. Mer Médit., CIESM, Monaco, 20, 3: 197-199.
 28. Sournia, A., 1978. Phytoplankton manual. "Monographs on Oceanographic Methodology," UNESCO. Paris, Nr.6, pp. 337.
 29. Sournia, A., Chrétiennot-Dinet, M.-J., Ricard, M., 1991. Marine plankton: how many species in the world oceans? Journal of Plankton Research, 13, 1093–9.
 30. Utermohl, H., 1958. Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. Mitt int. Verein. theor. angew. Limnol. 9: 1-38.
 31. **Vlas, O.**, Lazăr, L., Boicenco, L., Pantea, E., Făgăraș, M., 2020. Influence of Temperature and Nutrients on the Growth Rate of the Marine Diatom, *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve 1873. Cercetări Marine - Recherches Marines, 50(1), 73-83.
 32. Winder, M., Sommer, U., 2012. Phytoplankton response to a changing climate. Hydrobiologia 698:5–16.
 33. Yunev, O.A., Carstensen, J., Moncheva, S., Khaliulin, A., Ærtebjerg, G., Nixon, S., 2007. Nutrient and phytoplankton trends on the western Black Sea shelf in response to cultural eutrophication and climate changes. Estuarine, Coastal and Shelf Science. 74. 63-76. 10.1016/j.ecss.2007.03.030.

IX. ACTIVITATEA ȘTIINȚIFICĂ PE DURATA STAGIULUI DE DOCTORAT

A. LUCRĂRI ȘTIINȚIFICE PUBLICATE ÎN REVISTE COTATE ISI CU FACTOR DE IMPACT

1. First attempt to use the biomass of important Black Sea diatom for biodiesel production, **O. Culcea**, S. Nicolaev, D. M. Rosioru, M. M. Fagaras, L. Boicenco, Journal of Environmental Protection and Ecology 19, No 3, ISSN 1311-5065, 2018, **IF = 0,679**.

B. LUCRĂRI ȘTIINȚIFICE PUBLICATE ÎN REVISTE COTATE ISI FĂRĂ FACTOR DE IMPACT

1. Identification of the Romanian Black Sea water types - assessment related to the Marine Strategy Framework Directive implementation, 14th International Multidisciplinary Scientific GeoConference, M.E. Mihailov, S. Nicolaev, L. Buga, S. Jelescu, L. Boicenco, A.D. Spinu, L. Lazar, **O. Vlas**, C. Tabarcea, G. Ganea, SGEM 2014 Conference Proceedings, Book 3, Vol. 2, ISBN 978-619-7105-14-8 / ISSN 1314-2704, 2014.
2. Hyperspectral remote sensing for estimating coastal water quality: case study on coast of Black Sea, Romania, S. G. Ghezehegn, P. Steef, A. Hommersom, De Reus Nils, **O. Culcea**, B. Krommendijk, Proceedings Volume 9239, Remote Sensing for Agriculture, Ecosystems, and Hydrology XVI, 923913, 2014.

C. LUCRĂRI ȘTIINȚIFICE PUBLICATE ÎN REVISTE INDEXATE BDI

1. Influence of temperature and nutrients on the growth rate of the marine diatom, *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve 1873, **O. Vlas**, L. Lazăr, L. Boicenco, E. Pantea, M. Făgăraș, Cercetari marine vol. 50, ISSN 2734-438X ISSN-L 0250-3069, 2020.
2. Performing first integrative evaluation of the ecological status of Romanian Black Sea waters using nested environmental status assessment tool (NEAT), O. Marin, V. Abaza, E. Bișinicu, L. Boicenco, V. Coatu, M. Galațchi, L. Lazăr, A. Oros, E. Pantea, C. Tabarcea, G. Țiganov, **O. Vlas**, Cercetari marine vol. 50, ISSN 2734-438X ISSN-L 0250-3069, 2020.
3. Ecological status of Romanian Black Sea waters according to the planktonic communities, L. Boicenco, E. Bișinicu, **O. Vlas**, G-E. Harcotă, L. Lazăr, E. Pantea, C. Tabarcea, F. Timofte, "Cercetări Marine", Issue no. 49, ISSN-L 0250-3069/ISSN 2734-438X, 2019.
4. Black Sea Eutrophication Status - The Integrated Assessment Limitations and Obstacles, L. Lazăr, L. Boicenco, O. Marin, **O. Culcea**, E. Pantea, E. Bișinicu, F. Timofte, V. Abaza, A. Spînu, Cercetări Marine, no. 49, ISSN 2734-438X ISSN-L 0250-3069, 2019.

D. LUCRĂRI ȘTIINȚIFICE PUBLICATE SUB EDITURI RECUNOSCUTE CNCSIS:

1. Black Sea eutrophication dynamics from causes to effects (2012-2017), L. Lazar, L. Boicenco, O. Marin, **O. Culcea**, V. Abaza, E. Mihailov, Cercetari marine-Recherches marines, Volum nr. 48, ISSN 2734-438X ISSN-L 0250-3069, 2018, editura CD Press.
2. Isolation and Maintenance Methods for *Skeletonema costatum* in Laboratory Cultures, **O. Culcea**, Cercetări Marine, vol. 47, ISSN 2734-438X ISSN-L 0250-3069, 2017, editura CD Press.
3. Raport anual privind starea mediului în România în 2015, L. Alexandrov, E. Bișinicu, L. Boicenco, V. Coatu, **O. Culcea**, D. Diaconeasa, C. Dumitrache, A. Filimon, Golumbeanu M., Lazăr L., Malciu V., Marin O., Mateescu R., Maximov V., Micu D., E. Mihailov, M. Nenciu, S. Nicolaev, V. Niță, A. Oros, E. Pantea, V. Pătrașcu, A. Spinu, Stoica E., F. Timofte, T. Zaharia, Cercetări Marine, no. 46 bis, ISSN 2734-438X ISSN-L 0250-3069, 2016, editura CD Press.
4. Report on the state of the marine and coastal environment in 2014, L. Alexandrov, E. Bișinicu, L. Boicenco, V. Coatu, **O. Culcea**, D. Diaconeasa, C. Dumitrache, A. Filimon, M. Golumbeanu,

L. Lazăr, V. Malciu, O. Marin, R. Mateescu, V. Maximov, D. Micu, E. Mihailov, M. Nenciu, S. Nicolaev, V. Niță, A. Oros, V. Pătrașcu, A. Spînu, E. Stoica, F. Timofte, D. Țigănuș, T. Zaharia, Cercetări Marine, no. 45, ISSN 2734-438X ISSN-L 0250-3069, 2015, editura CD Press.

E. SELECȚIE DE CAPITOLE DIN CĂRȚI, MONOGRAFII PUBLICATE SUB EDITURI NAȚIONALE ȘI INTERNAȚIONALE:

1. BSC, 2019. State of the Environment of the Black Sea (2009-2014/5), Contribuții la capitolul „The State and Dynamics of the Biological Community – Phytoplankton”, S. Moncheva, L. Boicenco, A. S. Mikaelyan, A. Zotov, N. Dereziuk, C. Gvarishvili, N. Slabakova, R. Mavrodieva, **O. Vlas**, L. A. Pautova, V. A. Silkin, V. Medinets, F. Sahin, A. M. Feyzioglu. Publications of the Commission on the Protection of the Black Sea Against Pollution (BSC), Istanbul, Turkey, 811 pp., ISBN 978-605-84837-0-5, 2019.
2. State of Environment Report of the Western Black Sea based on Joint MISIS cruise (SoE-WBS), Contribuții la capitolul II. 1. Phytoplankton in MISIS Joint Cruise Scientific Report, S. Moncheva, L. Boicenco, F. Sahin, D. Ediger, **O. Culcea**, R. Mavrodieva, N. Slabakova, V. Doncheva, 2014, Ed. ExPonto, 401 pp, ISBN: 978-606-598-367-0.
3. Report on the MISIS cruise Intercalibration Exercise: Phytoplankton, S. Moncheva, V. Doncheva, L. Boicenco, F. Sahin, N. Slabakova, **O. Culcea**, 2014, 44 pp. ISBN: 978-606-598-359-5.

F. SELECȚIE DE LUCRĂRI PREZENTATE LA MANIFESTĂRI ȘTIINȚIFICE INTERNAȚIONALE ȘI PUBLICATE SUB FORMĂ DE REZUMAT

1. **O. Culcea**, S. Nicolaev, D. M. Rosioru, M. M. Fagaras, L. Boicenco, 2018. Biodiesel production using the biomass of the microalgae *Skeletonema costatum* grown in laboratory cultures - Book of abstracts, Water Across Time in Engineering Research, 21 June 2018, Faculty Of Civil Engineering, Ovidius University of Constanta, Editura Ex Ponto, ISBN 978-606-598-663-3, pp. 109.
2. **O. Culcea**, L. Boicenco, L. Lazăr, E. Pantea, 2018. Algal blooms in the Romanian Black Sea waters in the begining of the 21st Century in: Deltas and Wetlands (Book of Abstract), vol. 5, 10 pp, Tulcea, Romania. ISSN 2344-3766.
3. L. Boicenco, **O. Vlas**, L. Lazăr, 2013. Spring Season Phytoplankton Communities in Romanian Black Sea Waters. 4th bi-annual Black Sea scientific conference “Black Sea - challenges towards good environmental status“, 2013 Abstracts Book ISBN 978-606-8066-46-2.

G. PARTICIPĂRI LA CONFERINȚE ȘTIINȚIFICE

În străinătate:

1. **O. Culcea**, M. Făgăraș, L. Boicenco, E. D. Pantea & L. Lazăr: Key Species That Produced Phytoplankton Blooms In The Romanian Black Sea Waters during 2001-2017. 7th Balkan Botanical Congress – 7BBC, 10-14 September 2018, Novi Sad, Serbia. **Poster**
2. M. Făgăraș & **O. Culcea**: The Danube Delta Biosphere Reserve And Its Importance In The Preservation Of The Coastal Habitats.– 7th Balkan Botanical Congress – 7BBC, 10-14 September 2018, Novi Sad, Serbia. **Poster**.

În țară:

1. **O. Culcea**, L. Boicenco, L. Lazăr, E. Pantea. Algal blooms in the Romanian Black Sea waters in the begining of the 21st Century. Symposium “Deltas & Wetlands”, 16-20 May 2018, Tulcea, Romania. **Poster**.
2. **O. Culcea**, S. Nicolaev, D. M. Rosioru, M. M. Fagaras, L. Boicenco. Biodiesel production using the biomass of the microalgae *Skeletonema costatum* grown in laboratory cultures. Water Across Time in Engineering Research 21 June 2018, FACULTY OF CIVIL ENGINEERING, Ovidius University of Constanta. **Poster**.

3. L. Boicenco, E. Pantea, L. Lazar and **O. Culcea**. Interannual variations of chlorophyll a concentration in the Romanian Black Sea waters. INTERNATIONAL U.A.B. - B.EN.A. CONFERENCE ENVIRONMENTAL ENGINEERING AND SUSTAINABLE DEVELOPMENT, MAY 25-27th, 2017, Alba Iulia, România. **Poster**.
4. **O. Culcea** - Isolation and Maintenance Methods for *Skeletonema costatum* in Laboratory Cultures. International Symposium: Protection Of The Black Sea Ecosystem And Sustainable Management Of Maritime Activities PROMARE 2017, 8th Edition, 7-9 September 2017, Constanța, România. **Prezentare orală**.
5. L. Boicenco, L. Lazăr, **O. Culcea**, A.-D. Spînu - Phytoplankton quality assessment in the Romanian coastal and transitional areas according to the Water Framework Directive – International Symposium “Protection of the Black Sea Ecosystem and Sustainable Management of Maritime Activities” 7th Edition, PROMARE 2015, Constanta. **Poster**.
6. L. Boicenco, **O. Vlas**, L. Lazăr (2013), Spring Season Phytoplankton Communities in Romanian Black Sea Waters 4th BI-ANNUAL BLACK SEA SCIENTIFIC CONFERENCE “BLACK SEA - CHALLENGES TOWARDS GOOD ENVIRONMENTAL STATUS“. **Poster**.

H. PREMII

1. **Premiul I** pentru cea mai bună prezentare **poster** în cadrul 4th-Bi-annual Black Sea Scientific Conference, “Black Sea- Challenges towards good environment status”, Constanța, România, 28-31 October 2013, a lucrării „ Spring season phytoplankton communities in Romanian Black Sea waters” având ca autori pe Laura Boicenco, **Oana Vlas** și Luminita Lazar.
2. **Premiul III** pentru cea mai bună **prezentare orală** în cadrul International Symposium „Protection of the Black Sea ecosystem and sustainable management of maritime activities, 8th Edition, Promare 2017, 7-9 September 2017, Constanța, România, lucrarea „Isolation and maintenance methods for *Skeletonema costatum* in laboratory cultures” având ca autor pe **Oana Culcea**.

I. SELECȚIE DE PARTICIPĂRI ÎN PROIECTE RELEVANTE

1. Actualizarea programului de monitoring integrat al ecosistemului marin la Marea Neagră conform cerințelor art. 11 al Directivei Cadru Strategia pentru mediul marin (2008/56/CE), Contract 28/27.12.2013 (11.2013 – 12. 2013)– participare la activitatea de teren, colectarea și analiza probelor de fitoplancton, determinarea spectrofotometrică a clorofilei a, actualizarea denumirilor și greutăților speciilor.
2. MSFD (Marine Strategy Framework Directive) GUIDING IMPROVEMENT IN THE BLACK SEA INTEGRATED MONITORING SYSTEM (MISIS) – implicată în colectarea și analiza probelor de fitoplancton, actualizarea listei de specii și a biovolumului speciilor. Participarea la o expediție internațională pe mare și un exercițiu de intercalibrare cu alți specialiști în fitoplancton. Prelevarea și analiza probelor de fitoplancton, prelucrarea și interpretarea datelor și întocmirea rapoartelor.
3. DG MARE: EMODNet Biology – Operation, development and maintenance of a European Marine Observation and Data Network, contract nr. 2019340/19/04/2017, 2017-2019.
4. Studiu privind toxicitatea apelor reziduale (PROWATOX) - Act adițional 02 din 25.01.2019 la Contract 72/04.07.2018, Beneficiar: Halcrow Romania S.R.L. (JACOBS Ltd.), Client Final: EXXONMOBIL EXPLORATION AND PRODUCTION ROMANIA LIMITED NASSAU (BAHAMAS) SUCURSALA BUCURESTI.
5. PN 45N/2019. 19260202 Cercetări ecologice, ecofiziologice și biotehnologice în ecosistemele marine românești. Responsabil Faza 4: Identificarea tiparelor de dezvoltare a microalgelor în mediul natural.
6. PN 45N/2019. 19260202 Cercetări ecologice, ecofiziologice și biotehnologice în ecosistemele marine românești. Responsabil Faza 5: Testarea experimentală, în condiții controlate de laborator, a ipotezelor cu privire la dezvoltarea speciei *Skeletonema costatum*.

J. CONTRIBUȚII ÎN CERCETAREA ȘTIINȚIFICĂ

1. Introducerea de metode-metodologii de vârf în cercetare prin crearea unei metodologii de utilizare a dispersanților în Marea Neagră, care să poată constitui baza elaborării unui cadru legislativ privind utilizarea dispersanților în Marea Neagră, ROVOCON13-011/28.02.2013- membru în echipa de proiect pentru realizarea experimentelor pentru observarea efectului dispersanților asupra speciei de microalge *Skeletonema costatum*, din culturi monospecifice realizate în laborator.
2. Contribuții deosebite în cercetarea aplicativă prin introducerea de produse și tehnologii în domeniul economic de aplicabilitate: Menținerea în culturi în laborator a speciei de microalge *Skeletonema costatum* ca material biologic disponibil pentru teste de toxicitate și experimente, începând cu anul 2013.