

УДК 582.261.1:581.16:551.465.62

ОПТИМУМЫ СОЛЁНОСТИ ДЛЯ ВЕГЕТАТИВНОГО РАЗМНОЖЕНИЯ И ПОЛОВОГО ВОСПРОИЗВЕДЕНИЯ ДИАТОМОВОЙ ВОДОРΟΣЛИ *TOXARIUM UNDULATUM*

© 2020 г. Н. А. Давидович, О. И. Давидович

Карадагская научная станция имени Т. И. Вяземского — природный заповедник РАН —
филиал ФИЦ ИнБИОМ, Феодосия, Российская Федерация
E-mail: nickolaid@yandex.ru

Поступила в редакцию 03.09.2019; после доработки 03.09.2019;
принята к публикации 27.03.2020; опубликована онлайн 31.03.2020.

Распространение диатомовых водорослей ограничивается пределами их толерантности по отношению к факторам среды. Род *Toxarium* представлен всего двумя видами, хотя его эволюция продолжается более 100 млн лет. *Toxarium undulatum* широко распространён в тропических и субтропических морях; он встречается и в Чёрном море, солёность которого вдвое ниже океанической. Представляет интерес изучение эколого-физиологических характеристик этого вида с точки зрения его отношения к солёности. Клоновые культуры *T. undulatum* выделены из проб, собранных в озере Донузлав, сообщаемом с Чёрным морем (юго-запад Крымского полуострова), и в прибрежье острова Гран-Канария (архипелаг Канарских островов). Эксперименты по изучению пределов толерантности по отношению к солёности показали, что черноморские клоны жизнеспособны в диапазоне, охватывающем как минимум 30 ‰ (от 12 до 42 ‰). Такой же широкий диапазон солёностной толерантности, слегка сдвинутый в сторону больших значений, наблюдали у океанических клонов этого вида. Установлены оптимумы для вегетативного роста и полового воспроизведения. У черноморских клонов они оказались равными 27,8 и 27,2 ‰ соответственно, что заметно выше солёности, которая наблюдается в месте обитания популяции. Аналогичное превышение положения оптимумов в отношении вегетативного размножения и полового воспроизведения по сравнению с теми уровнями солёности, в которых находятся природные популяции, было отмечено для ряда других черноморских диатомовых, что свидетельствует об их океаническом (средиземноморском) прошлом. Сделан вывод о том, что *T. undulatum*, наряду с другими видами, начал заселять черноморский бассейн ориентировочно семь тысяч лет назад, после того как в распреснённое Новозвксинское море-озеро через образовавшийся пролив Босфор стала поступать вода из Средиземного моря. Между тем темпы эволюции не позволили привести физиологические и экологические характеристики изучаемого вида в полное соответствие с условиями окружающей среды. В его физиологических реакциях по отношению к солёности прослеживается океаническое происхождение. Обсуждается возможность видообразования в связи с заселением Чёрного моря океаническими видами.

Ключевые слова: диатомовые, *Toxarium undulatum*, эволюция, солёность, пределы толерантности

В Чёрном море обитает одна из самых крупных диатомей, *Toxarium undulatum* Bailey, 1854. Этот вид обычен для тропических и субтропических морей [22], отличающихся от Чёрного моря более высокой солёностью. Ранее нами было показано, что целый ряд видов диатомовых, встречающихся в Чёрном море, имеет большие оптимумы солёности для вегетативного роста и полового воспроизведения, чем в местах обитания их популяций [2, 3]. Самое рациональное объяснение этому мы видели в возможности заселения изученными видами — оригинально океаническими

и эволюционно адаптированными к солёности 35–36 ‰ — черноморского бассейна 7–8 тысяч лет назад, после образования Босфорского пролива, когда сильно опреснённое Новозёвксинское море-озеро стало осолоняться водами, поступающими из Средиземного моря [5, 7]. Изучение физиологических реакций *T. undulatum* дало нам новые, изложенные в настоящей работе данные об этом виде-космополите, распространённом во всех прибрежных морях субтропического пояса, и его отношении к пониженной (черноморской) солёности.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Пробы перифитона собраны с глубины около 40 см у восточного берега оз. Донузлав (юго-запад Крымского полуострова, точка с координатами 45°22'23" с. ш., 33°05'40" в. д.) и на острове Гран-Канария (архипелаг Канарских островов, 27°59'27" с. ш., 15°22'06" з. д.). Из проб, доставленных в лабораторию, с использованием стеклянных микропипеток и инвертированных микроскопов Zeiss Primovert (Carl Zeiss AG, Германия) и Nib-100 (Китай) выделены одиночные клетки, давшие начало клоновым культурам (рис. 1). Культуры содержали в стеклянных колбах Эрленмейера объёмом 100 мл в модифицированной среде ESAW [9], периодически (раз в 7–14 дней) осуществляя пересевы в свежую среду. Условия содержания и порядок наименования клонов описаны в [1]. Черноморские клоны содержали при 20 ‰, канарские — при 30 ‰. В месте отбора проб солёность составляла 20 и 36 ‰ соответственно. Солёность измеряли рефрактометром RHS-10ATC (Китай).

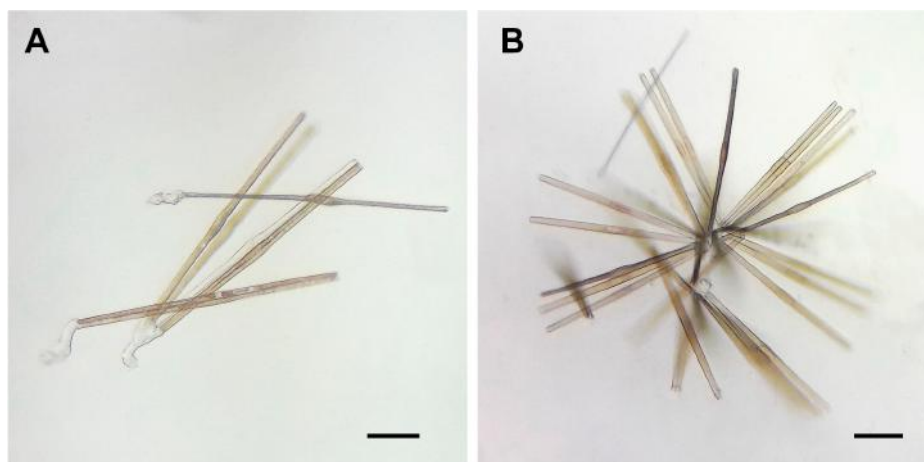


Рис. 1. *Toxarium undulatum*, который прикреплен к субстрату при помощи слизи, выделяемой одним из апикальных концов клетки, в процессе деления образует кустиковидные колонии. А — клон 8.0827-У, черноморская популяция; В — клон 9.0620-С, канарская популяция. Масштабная линейка — 100 мкм

Fig. 1. *Toxarium undulatum*, attached to substrate with the help of mucilage secreted by one of the apical ends of the cell, forms tuft colonies in the process of division. А – clone 8.0827-У, the Black Sea population; В – clone 9.0620-С, the Canary population. Scale bar is 100 μm

После того как нам удалось инициировать половое воспроизведение в смешанных посевах клонов черноморской популяции, для дальнейших экспериментов были выбраны пары клонов (8.0820-Е + 8.0830-К) и (8.0827-У + 8.0830-К). В результате скрещивания последней пары получены инициальные клетки, которые характеризовались размерами, близкими к максимальным для вида. Несколько постинициальных клеток (средний размер — 1270 мкм) были выделены в культуру; впоследствии они использованы в экспериментах как клетки, находящиеся в начале жизненного цикла. Кроме них, в экспериментах задействованы клоны 8.0822-Д, 8.0920-Е и 8.1227-А из черноморской популяции со средними размерами клеток 642, 518 и 963 мкм соответственно. В клонах 9.0618-А, 9.0618-Е, 9.0620-В и 9.0621-ДД из популяции с о-ва Гран-Канария средний размер клеток на момент проведения экспериментов составил 680, 212, 284 и 334 мкм соответственно.

Действие фактора солёности на водоросль оценивали по смертности клеток при переносе их из среды, в которой они содержались в коллекции, в новую среду с градацией солёности: 8, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54 ‰. Необходимую солёность получали путём разбавления приготовленной по рецепту среды ESAW (36 ‰) дистиллированной водой либо добавления к ней хлорида натрия. Клетки засеивали в стеклянные чашки Петри диаметром 50 мм (площадь дна — 494 мм²). Смертность определяли как отношение числа мёртвых клеток к общему числу клеток. Клетка считалась погибшей на основании визуальной оценки состояния внутреннего содержимого, прежде всего хлоропластов (их цвета, расположения или полного отсутствия). Количество клеток подсчитывали в десяти полях зрения микроскопа Nib-100 (площадь поля зрения — 0,88 мм²) при увеличении объектива 20× и окуляра 10× в течение пяти дней: в первый, второй и пятый дни эксперимента — для черноморских клонов, в первый, второй, четвёртый и пятый дни — для канарских. Для каждого клона вычисляли среднее значение смертности за все дни эксперимента.

Для нахождения оптимумов использовали уравнение второго порядка, аппроксимирующее полученные данные; его коэффициенты находили по методу наименьших квадратов [6]. Значение аргумента первой производной этого уравнения, равной нулю, определяло положение оптимума.

РЕЗУЛЬТАТЫ

И черноморская, и океаническая популяции *T. undulatum* продемонстрировали широкую толерантность в отношении солёности: диапазон охватывал как минимум 30 ‰ (рис. 2). Черноморские клоны жизнеспособны в диапазоне от 12 до 42 ‰ (возможно, в чуть более широком, с учётом заданного в экспериментах шага градации 6 ‰). Канарские клоны выдерживали солёность от 18 до 48 ‰. Наблюдавшийся у океанических клонов сдвиг в сторону бóльших солёностей, чем у черноморских, можно было бы связать с тем, что до опытов их содержали при разной солёности (30 и 20 ‰ соответственно), однако ряд авторов утверждает, что у диатомовых предварительная адаптация к крайним для видов уровням солёности не ведёт к заметному расширению пределов толерантности [8].

Для черноморских клонов отмечена зависимость количества погибших при переносе в новую среду клеток (в среднем для пяти дней роста при девяти опробованных уровнях солёности) от их размера (рис. 3). Клетки максимального размера, появившиеся в результате полового процесса и находившиеся в начале жизненного цикла, оказались наиболее чувствительными к изменению условий роста. У канарских клонов такая зависимость не прослеживалась. Следует обратить внимание на то, что их половое воспроизведение не изучено; самые крупные клетки, находящиеся в начале жизненного цикла, не получены.

Оптимум солёности для вегетативного роста клеток черноморской популяции *T. undulatum* составил 27,8 ‰, для канарских клонов — 32,4 ‰. Для полового воспроизведения, инициированного у черноморских клонов, оптимальными были 27,2 ‰ (рис. 4).

ОБСУЖДЕНИЕ

Морфология и образ жизни представителей четырёх родов — *Ardissonea* De Notaris, *Climacosphenia* Ehrenberg, *Synedrosphenia* (H. Peragallo) Azpeitia Moros и *Toxarium* J. W. Bailey (порядок Toxariales Round), объединяемых общим названием токсарииды, — находятся в явном противоречии с данными геносистематики, которая размещает их среди полярных центрических диатомовых [19, 20, 21, 24, др.]. Обособленность и эволюционная уникальность этой группы недавно подтверждены результатами исследования репродуктивной биологии *Ardissonea crystallina* (C. Agardh) Grunow: как оказалось, воспроизводится эта водоросль не оогамным путём, типичным для всех изученных до этого центрических, а способом, более характерным для пеннатных [13]. Судя по молекулярно-филогенетическим построениям [21], можно заключить, что эволюционная линия токсариид отделилась от своих предков на рубеже мелового и юрского периодов, около 150 млн лет назад; 35 млн лет спустя *Toxarium* разошёлся с *Ardissonea* и *Climacosphenia*. Следует обратить

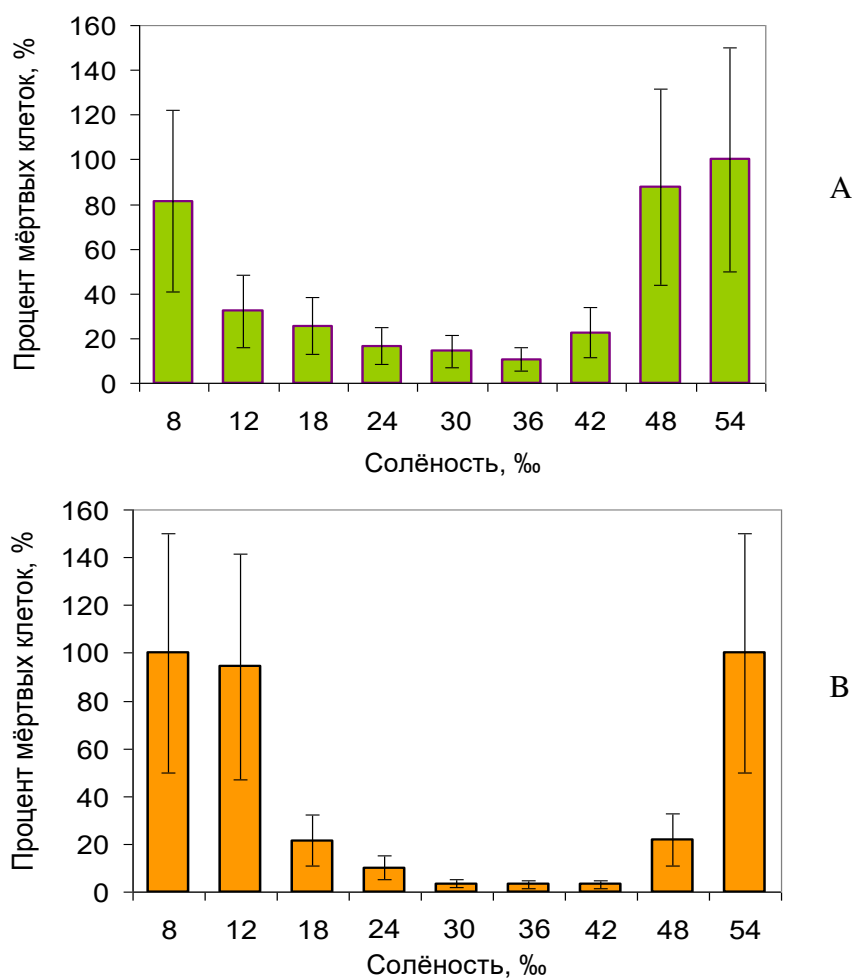


Рис. 2. Относительное количество погибших клеток *Toxarium undulatum* при переносе из среды с солёностью 20 ‰ (А, черноморская популяция) и 30 ‰ (В, канарская популяция) в новую среду с разной солёностью (в среднем для четырёх клонов за пять дней роста в новой среде)

Fig. 2. Relative number of dead *Toxarium undulatum* cells when transferred from medium with salinity of 20 ‰ (A, the Black Sea population) and 30 ‰ (B, the Canary population) to a new medium with different salinity levels (on average for four clones for five days of growth in the new medium)

внимание на то, что в роде *Toxarium* насчитывается всего два вида [22]. Это свидетельствует о значительной консервативности его генетической композиции: она мало менялась на протяжении более чем 100 млн лет. По крайней мере, произошедшие изменения не привели к появлению новых, морфологически различимых видов. С учётом этого обстоятельства можно предположить, что, заселяя новые места обитания, отличающиеся, в частности, уровнем солёности, *Toxarium* сохраняет свои особенности, выработанные миллионами лет эволюции, которые на физиологическом уровне проявляются в определённых физиологических оптимумах. При эволюционной адаптации к новой солёности сдвиг пределов толерантности и физиологических (экологических) оптимумов неизбежен; вопрос в скорости таких изменений.

Являются ли 7–8 тыс. лет достаточным периодом для эволюционных изменений, которые могут привести к появлению не только новых свойств, но и новых видов диатомовых? На этот вопрос можно ответить положительно, если в качестве примера взять комплекс криптических видов рода *Haslea* [17, 18]. Недавно описанный нами *Haslea karadagensis* [16] — эндемик Чёрного моря [18]. При этом вид имеет пределы толерантности и физиологические оптимумы, указывающие на океаническое происхождение: 25–30 ‰ были оптимальны для его роста, а половое воспроизведение не происходило в среде, солёность которой ниже 17 ‰ [14].

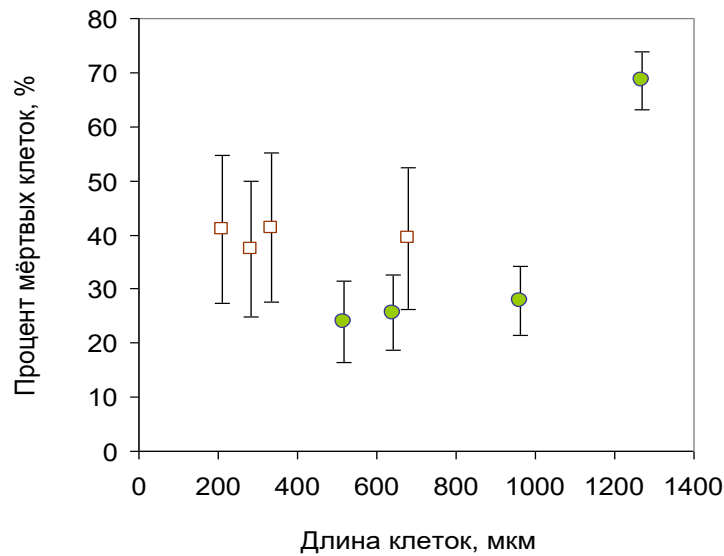


Рис. 3. Смертность клеток *Toxarium undulatum* в зависимости от их апикальной длины (при переносе в новую среду, в среднем для девяти уровней солёности); □ — канарские клоны; ● — черноморские клоны

Fig. 3. Mortality of *Toxarium undulatum* cells depending on their apical length (when transferred to a new culture medium, on average for nine salinity levels); □ are the Canary clones; ● are the Black Sea clones

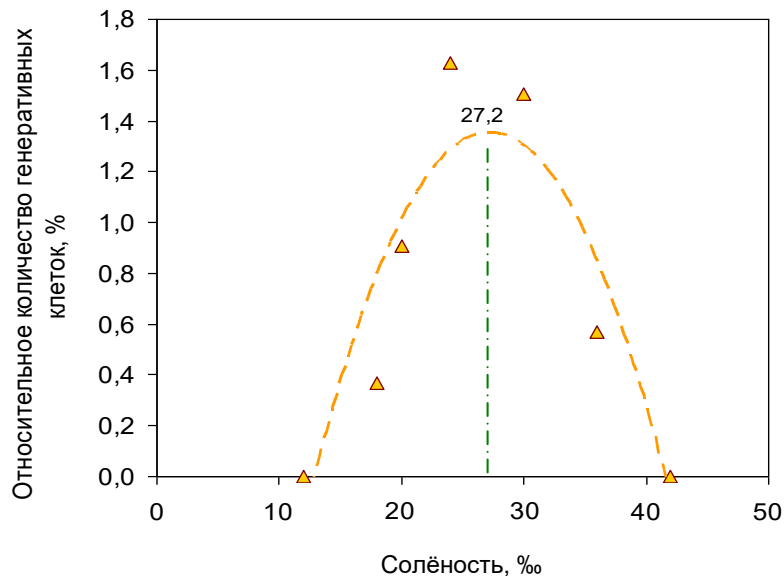


Рис. 4. Относительное количество генеративных клеток в смешанных посевах репродуктивно совместимых клонов *Toxarium undulatum* в зависимости от уровня солёности среды. Аппроксимация выполнена полиномом второй степени. Штрихпунктирная линия указывает на положение оптимума

Fig. 4. Relative number of generative cells in mixtures of reproductively compatible *Toxarium undulatum* clones depending on a salinity level of a medium. Approximation was performed by a second-degree polynomial. A dash-dotted line indicates an optimum position

Пределы толерантности *T. undulatum* по отношению к солёности достаточно широки. Клетки оставались жизнеспособными (в разной мере) при 12–42 ‰, половое воспроизведение происходило в немного более узком диапазоне. Столь широкий диапазон при оптимуме около 30 ‰ свидетельствует в пользу предположения о том, что именно относительная эвригалинность позволила виду освоить новое для него место обитания после возникновения проливов, соединяющих Чёрное и Средиземное моря. Маловероятно, что предковая средиземноморская (океаническая) популяция

была стеногалинной, а у черноморской популяции вследствие эволюционных изменений за относительно короткий период (7–8 тыс. лет) диапазон толерантности значительно расширился. Об этом также свидетельствуют результаты изучения положения физиологических оптимумов и пределов толерантности океанической популяции клонов, выделенных нами с побережья о-ва Гран-Канария, по морфологическим характеристикам определяемых как *T. undulatum*. В этом месте Мирового океана, в отличие от Чёрного моря, солёность оставалась неизменной на протяжении многих миллионов лет, однако выделенные клоны показали такую же широкую толерантность, как и черноморские, и их оптимумы для роста различались незначительно.

Какие-то выводы о возможных репродуктивных барьерах между черноморской популяцией *T. undulatum* и популяциями из других мест Мирового океана преждевременны до выполнения экспериментов по скрещиванию.

Как известно, размер клеток определяет их фазу жизненного цикла [22]. Априори, до установления положения верхней границы размерного диапазона аукоспорообразования, с высокой вероятностью можно утверждать, опираясь на общие принципы [12], что клетки клонов 8.0822-D и 8.0920-E находились в генеративной фазе, в то время как клетки клона 8.1227-A ещё не достигли размеров, позволяющих вступление в половой процесс. У четырёх изученных клонов из Чёрного моря прослеживалась корреляция между устойчивостью к изменению солёности среды и размером клеток: мелкие клетки оказались более устойчивыми к резким изменениям солёности (см. рис. 2). Между тем делать окончательный вывод о зависимости солетолерантности от фазы жизненного цикла пока преждевременно (ввиду небольшого количества полученных данных и возможного клоноспецифического ответа). С клоновой специфичностью мы сталкивались во многих экспериментах; это касалось широкого круга характеристик, начиная со способности синтезировать и накапливать определённые вещества (например, пигменты у представителей рода *Haslea*) и заканчивая способностью к вступлению в половой процесс и интенсивностью аукоспоруляции. Заметим, что у близкородственного вида *A. crystallina*, напротив, более крупные клетки быстрее адаптировались к переносу из среды с солёностью 20 ‰ в среду с солёностью 12 ‰ [15].

При указанных различиях важно отметить следующую общую закономерность: для всех изученных нами черноморских видов диатомовых оптимумы солёности для вегетативного роста и полового воспроизведения были выше типичной для Чёрного моря вблизи крымского побережья солёности 17–18 ‰ (табл. 1). Превышение достигало 8–12 ‰ и даже больших значений. Сведения о том, что диатомовые, живущие в Чёрном море, делятся быстрее при солёности выше черноморской, не новы (например, [4, 8, 10]). Такое несовпадение физиологических (экологических) оптимумов с условиями, характерными для мест обитания популяций изученных видов (см., однако, иное мнение [10]), на наш взгляд, недвусмысленно показывает, что для Чёрного моря эти виды являются пришлыми, а темпы их эволюции не позволили привести физиологические и экологические характеристики в полное соответствие с условиями окружающей среды.

Для того чтобы вид мог существовать в определённых условиях солёности, чрезвычайно важным является соответствие этим условиям диапазона толерантности, относящегося не только к вегетативному росту, но и к половому воспроизведению. Как известно, половое воспроизведение для подавляющего большинства диатомовых является обязательным этапом жизненного цикла [11, 22]. Следующее поколение может не появиться из-за неподходящих условий среды. *T. undulatum* продемонстрировал способность воспроизводиться половым путём в диапазоне солёностей, несколько более узком, чем для вегетативного роста, но всё же достаточно широком. Обращает на себя внимание положение оптимума: и в этом случае он гораздо выше значений солёности воды Чёрного моря и оз. Донузлав.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что *T. undulatum*, наряду со многими другими видами диатомовых водорослей, заселил Черноморский бассейн в постновоэвксинский период. В его физиологических реакциях по отношению к солёности среды прослеживается

океаническое происхождение. Задача последующих исследований будет состоять в изучении репродуктивных отношений черноморской и океанической популяций и в выяснении наличия или отсутствия между ними репродуктивных барьеров.

Таблица 1. Уровни солёности, благоприятные для вегетативного роста и полового воспроизведения некоторых черноморских видов диатомовых водорослей

Table 1. Salinity levels, favorable for vegetative growth and sexual reproduction of some Black Sea diatoms

Вид	Оптimum для вегетативного роста (пределы толерантности), ‰	Оптimum для полового воспроизведения, ‰	Источник данных
<i>Ardissonaea crystallina</i>	29 (9–45)	30	[15]
<i>Climaconeis scalaris</i>	30 (8–48)	30	[3]
<i>Haslea karadagensis</i>	25–30 (8–45*)	25–30	[14]
<i>Nitzschia longissima</i>	27 (8–45)	30	[23]
<i>Tabularia tabulata</i>	30 (2,25–49*)	30	[2]
<i>Toxarium undulatum</i>	28 (8–48)	27	настоящая работа

Примечание: * — более высокие значения солёности в экспериментах не проверяли.

Note: * – higher salinity values were not checked in experiments.

Работа поддержана грантом Российского фонда фундаментальных исследований «Изучение видоспецифичности эволюционного перехода от оогамии к неогамному половому воспроизведению у полярных центральных диатомей (*Mediophyceae*)» (№ 19-04-00070_a).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Давидович Н. А., Давидович О. И., Подунай Ю. А. Коллекция культур диатомовых водорослей Карадагской научной станции (Крым) // *Морской биологический журнал*. 2017. Т. 2, № 1. С. 18–28. [Davidovich N. A., Davidovich O. I., Podunai Yu. A. Diatom culture collection of the Karadag scientific station (Crimea). *Morskoy biologicheskij zhurnal*, 2017, vol. 2, no. 1, pp. 18–28. (in Russ.)]. <https://doi.org/10.21072/mbj.2017.02.1.03>
2. Давидович О. И. Влияние солёности на вегетативный рост и половое воспроизведение диатомовой водоросли *Tabularia tabulata* (C. A. Agardh) Snoeijs // *Актуальные проблемы биоразнообразия и природопользования* : материалы Всероссийской научно-практической конференции, Керчь, 26 сентября – 1 октября 2017 г. Симферополь : ИТ «АРИАЛ», 2017. С. 38–43. [Davidovich O. I. Vliyanie solenosti na vegetativnyi rost i polovoe vosproizvedenie diatomovoi vodorosli *Tabularia tabulata* (C. A. Agardh) Snoeijs. In: *Aktual'nye problemy bioraznoobraziya i prirodnopol'zovaniya* : materialy Vserossiiskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii, Kerch, 26 Sept. – 1 Oct., 2017. Simferopol : IT "ARIAL", 2017, pp. 38–43. (in Russ.)]
3. Давидович О. И., Давидович Н. А. Влияние солёности среды на вегетативный рост и половое воспроизведение двух водорослей из рода *Climaconeis* (Bacillariophyta) // *Морские биологические исследования: достижения и перспективы* : в 3-х т. : сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, приуроченной к 145-летию Севастопольской биологической станции, Севастополь, 19–24 сентября 2016 г. / под общ. ред. А. В. Гаевской. Севастополь : ЭКОСИ-Гидрофизика, 2016. Т. 1. С. 166–169. [Davidovich O. I., Davidovich N. A. Vliyanie solenosti sredy na vegetativnyi rost i polovoe vosproizvedenie dvukh vodoroslei iz roda *Climaconeis* (Bacillariophyta). In: *Morskie biologicheskie issledovaniya: dostizheniya i perspektivy* : v 3-kh t. : sbornik materialov Vserossiiskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem, priurochennoi k 145-letiyu Sevastopol'skoi biologicheskoi stantsii, Sevastopol, 19–24 Sept., 2016 / A. V. Gaevskaya (Ed.). Sevastopol : EKOSI-Gidrofizika, 2016, vol. 1, pp. 166–169. (in Russ.)]
4. Джафарова С. К. Рост клоновых культур полигалобных диатомовых водорослей при изменении

- ионного состава среды // *Альгология*. 1992. Т. 2, № 2. С. 20–24. [Dzhafarova S. K. Growth of polygalobe diatoms clone cultures in case of ionic medium composition variation. *Al'gologiya*, 1992. vol. 2, no. 2, pp. 20–24. (in Russ.)]
5. Димитров П. С., Димитров Д. П., Солаков Д. П., Пейчев В. Д. Новейшая геологическая история Черного моря и проблема потопы // *Геология и полезные ископаемые Мирового океана*. 2005. Т. 1. С. 102–111. [Dimitrov P. S., Dimitrov D. P., Solakov D. P., Peichev V. D. Noveishaya geologicheskaya istoriya Chernogo morya i problema potopa. *Geologiya i poleznye iskopaemye Mirovogo okeana*, 2005, vol. 1, pp. 102–111. (in Russ.)]
 6. Зайцев Г. Н. *Математическая статистика в экспериментальной ботанике*. Москва : Наука, 1984. 424 с. [Zaitsev G. N. *Matematicheskaya statistika v eksperimental'noi botanike*. Moscow : Nauka, 1984, 424 p. (in Russ.)]
 7. Зайцев Ю. П. *Это удивительное море*. Одесса : Изд-во «Маяк», 1978. 159 с. [Zaitsev Yu. P. *Eto udivitel'noe more*. Odessa : Izd-vo "Mayak", 1978, 159 p. (in Russ.)]
 8. Караева Н. И., Джафарова С. К. Экспериментальные исследования полигалобных Bacillariophyta в связи с солёностью среды // *Альгология*. 1993. Т. 3, № 2. С. 97–105. [Karaeva N. I., Dzhafarova S. K. Experimental investigations of polygalobic Bacillariophyta in connection with medium salinity. *Al'gologiya*, 1993, vol. 3, no. 2, pp. 97–105. (in Russ.)]
 9. Полякова С. Л., Давидович О. И., Подунай Ю. А., Давидович Н. А. Модификация среды ESAW, используемой для культивирования морских диатомовых водорослей // *Морской биологический журнал*. 2018. Т. 3, № 2. С. 73–78. [Polyakova S. L., Davidovich O. I., Podunai Yu. A., Davidovich N. A. Modification of the ESAW culture medium used for cultivation of marine diatoms. *Morskoy biologicheskij zhurnal*, 2018, vol. 3, no. 2, pp. 73–78. (in Russ.)]. <https://doi.org/10.21072/mbj.2018.03.2.06>
 10. Финенко З. З., Ланская Л. А. Рост и скорость деления водорослей в лимитированных объемах воды // *Экологическая физиология морских планктонных водорослей (в условиях культуры)* / под общ. ред. К. М. Хайлова. Киев : Наукова думка, 1971. С. 22–50. [Finenko Z. Z., Lanskaya L. A. Rost i skorost' deleniya vodoroslei v limitirovannykh ob'emakh vody. In: *Ekologicheskaya fiziologiya morskikh planktonnykh vodoroslei (v usloviyakh kul'tur)* / K. M. Khailov (Ed.). Kiev : Naukova dumka, 1971, pp. 22–50. (in Russ.)]
 11. Chepurnov V. A., Mann D. G., Sabbe K., Vyverman W. Experimental studies on sexual reproduction in diatoms. *International Review of Cytology*, 2004, vol. 237, pp. 91–154. [https://doi.org/10.1016/S0074-7696\(04\)37003-8](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(04)37003-8)
 12. Davidovich N. A. Species-specific sizes and size range of sexual reproduction in diatoms. In: *Proceedings of the 16th International Diatom Symposium*, Athens & Aegean Islands, 25 Aug. – 1 Sept., 2000 / A. Economou-Amilli (Ed.), 601 p. Athens : University of Athens, Faculty of Biology, 2001, pp. 191–196.
 13. Davidovich N. A., Davidovich O. I., Podunay Y. A., Gastineau R., Kaczmarska I., Pouličková A., Witkowski A. *Ardissonea crystallina* has a type of sexual reproduction that is unusual for centric diatoms. *Scientific Reports*, 2017, vol. 7, no. 1467, pp. 1–16. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-15301-z>
 14. Davidovich N. A., Gastineau R., Gaudin P., Davidovich O. I., Mouget J.-L. Sexual reproduction in the newly-described blue diatom, *Haslea karadagensis*. *Fottea*, 2012, vol. 12, iss. 2, pp. 219–229. <https://doi.org/10.5507/fot.2012.016>
 15. Davidovich O. I., Davidovich N. A., Podunay Yu. A., Shorenko K. I., Witkowski A. Effect of salinity on vegetative growth and sexual reproduction of algae from the genus *Ardissonea* de Notaris (Bacillariophyta). *Russian Journal of Plant Physiology*, 2016, vol. 63, no. 6, pp. 776–782. <https://doi.org/10.1134/S1021443716060030>
 16. Gastineau R., Davidovich N. A., Bardeau J.-F., Caruso A., Leignel V., Hardivillier Y., Jacqueline B., Davidovich O. I., Rincé Y., Gaudin P., Cox E. J., Mouget J.-L. *Haslea karadagensis* (Bacillariophyta): A second blue diatom, recorded from the Black Sea and producing a novel blue pigment. *European Journal of Phycology*, 2012, vol. 47, iss. 4, pp. 469–479. <https://doi.org/10.1080/09670262.2012.741713>
 17. Gastineau R., Davidovich N., Hansen G., Rines J., Wulff A., Kaczmarska I., Ehrman J., Hermann D., Maumus F., Hardivillier Y., Leignel V., Jacqueline B., Meleder V., Hallegraef G., Yallop M., Perkins R., Cadoret J.-P., Saint-Jean B., Carrier G., Mouget J.-L. *Haslea ostrearia*-like diatoms: Biodiversity out of the blue. In: *Advances in Botanical Research: Sea Plants* / N. Bourgoignon (Ed.).

- United Kingdom : Academic Press, 2014, vol. 71, pp. 441–465. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-408062-1.00015-9>
18. Gastineau R., Prasetya F. S., Falaise C., Cognie B., Decottignies P., Morançais M., Méléder V., Davidovich N., Turcotte F., Tremblay R., Pasetto P., Dittmer J., Bardeau J.-F., Pouvreau J.-B., Mouget J.-L. Marennine-like pigments: Blue diatom or green oyster cult? In: *Blue Biotechnology: Production and Use of Marine Molecules*. Vol. 1 / S. La Barre, S. S. Bates (Eds). Weinheim : Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2018, chap. 16, pp. 529–551. <https://doi.org/10.1002/9783527801718.ch16>
 19. Kooistra W. H. C. F., De Stefano M., Mann D. G., Salma N., Medlin L. K. Phylogenetic position of *Toxarium*, a pennate-like lineage within centric diatoms (Bacillariophyceae). *Journal of Phycology*, 2003, vol. 39, iss. 1, pp. 185–197. <https://doi.org/10.1046/J.1529-8817.2003.02083.X>
 20. Medlin L. K., Sato S., Mann D. G., Kooistra W. H. C. F. Molecular evidence confirms sister relationship of *Ardissonea*, *Climacospheonia*, and *Toxarium* within the bipolar centric diatoms (Bacillariophyta, Mediophyceae), and cladistic analyses confirm that extremely elongated shape has arisen twice in the diatoms. *Journal of Phycology*, 2008, vol. 44, iss. 5, pp. 1340–1348. <https://doi.org/10.1111/J.1529-8817.2008.00560.X>
 21. Nakov T., Beaulieu J. M., Alverson A. J. Accelerated diversification is related to life history and locomotion in a hyperdiverse lineage of microbial eukaryotes. *New Phytologist*, 2018, vol. 219, iss. 1, pp. 462–473. <https://doi.org/10.1111/NPH.15137>
 22. Round F. E., Crawford R. M., Mann D. G. *The Diatoms. Biology and Morphology of the Genera*. Cambridge : Cambridge University Press, 1990, 747 p.
 23. Shorenko K. I., Davidovich O. I., Davidovich N. A. On the taxonomy, reproduction, and distribution of the diatom *Nitzschia longissima* (Brèb.) Grunow (Bacillariophyta). *International Journal on Algae*, 2014, vol. 16, no. 1, pp. 5–28. <https://doi.org/10.1615/INTERJALGAE.V16.I1.10>
 24. Theriot E. C., Ashworth M., Ruck E., Nakov T., Jansen R. K. A preliminary multigene phylogeny of the diatoms (Bacillariophyta): Challenges for future research. *Plant Ecology and Evolution*, 2010, vol. 143, no. 3, pp. 278–296. <https://doi.org/10.5091/plecevo.2010.418>

SALINITY OPTIMA FOR VEGETATIVE GROWTH AND SEXUAL REPRODUCTION OF THE DIATOM *TOXARIUM UNDULATUM*

N. A. Davidovich and O. I. Davidovich

T. I. Vyazemsky Karadag Scientific Station – Nature Reserve of RAS – Branch of IBSS RAS,
Feodosia, Russian Federation
E-mail: nickolaid@yandex.ru

Distribution of diatom algae is limited by their tolerance to environmental factors. Although a genus *Toxarium* has been evolving for more than 100 million years, it is represented by only two species. *Toxarium undulatum* is widely spread in tropical and subtropical seas, and it can be also found in the Black Sea, the salinity of which is twice lower than the oceanic one. Ecological and psychological characteristics research of this species is of great interest in terms of its relationship to salinity. *T. undulatum* clonal cultures were sampled in the Donuzlav Lake connected to the Black Sea (southwest of the Crimean Peninsula) and on Gran Canaria coast (Canary Islands archipelago). Experiments on the salinity tolerance limits showed, that the Black Sea clones were viable in a range of at least 30 ‰ (12 to 42 ‰). The same wide range of salinity tolerance with slightly higher values was observed among oceanic clones of this species. Optima of vegetative growth and sexual reproduction were determined. Optima of the Black Sea clones appeared to be 27.8 and 27.2 ‰, respectively, which was significantly higher than salinity observed in population habitat. Similar higher optima of vegetative growth and sexual reproduction, compared with those salinity values, at which natural population developed, were observed for a number of other Black Sea diatoms, which proved their oceanic (Mediterranean) origin. It was concluded that *T. undulatum*, along with other species, began to populate the Black Sea basin about seven thousand years ago after Mediterranean Sea water started to flow into the freshened Novoevksinsky Sea-Lake through the Bosphorus Strait. However, the evolution rate did not allow bringing physiological and ecological characteristics of the species studied into full agreement with environmental conditions. Oceanic origin is evidently seen in its physiological reactions to salinity. Possibility of speciation due to settlement of the Black Sea with oceanic species is discussed.

Keywords: diatom, *Toxarium undulatum*, evolution, salinity, tolerance limits