

УДК 582.261.1-15:556.114.5

**ПРЕДЕЛЫ ГАЛОТОЛЕРАНТНОСТИ  
ЧЕРНОМОРСКОГО ПРЕДСТАВИТЕЛЯ РОДА *ENTOMONEIS* EHRENBURG, 1845  
(BACILLARIOPHYTA)**

© 2022 г. О. И. Давидович<sup>1</sup>, Н. А. Давидович<sup>1</sup>, Ю. А. Подунай<sup>1</sup>, Ч. Н. Солак<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Карадагская научная станция имени Т. И. Вяземского — природный заповедник РАН — филиал ФИЦ ИнБЮМ, Феодосия, Российская Федерация

<sup>2</sup>Университет Думлупынар, биологический факультет, Кютахья, Турция

E-mail: [olivdav@mail.ru](mailto:olivdav@mail.ru)

Поступила в редакцию 03.06.2020; после доработки 10.08.2020;  
принята к публикации 03.03.2022; опубликована онлайн 07.06.2022.

Род *Entomoneis* Ehrenberg, 1845 достаточно богат видами. Недооценённое разнообразие *Entomoneis* требует более глубокого морфологического и молекулярного исследования этого рода, а также изучения эколого-физиологических характеристик видов, в частности пределов толерантности к факторам среды. Учитывая распространение видов *Entomoneis* в водоёмах с различной солёностью, мы поставили задачу исследовать пределы толерантности и установить оптимальную солёность для вегетативного размножения и полового воспроизведения диатомовой водоросли *Entomoneis* sp. из Чёрного моря. В работе использованы оказавшиеся репродуктивно совместимыми клоновые культуры, которые были выделены из проб, отобранных у крымского и турецкого побережий Чёрного моря. Для клона *Entomoneis* sp. 7.0906-D получена нуклеотидная последовательность гена *rbcL*, которая представлена в базе данных GenBank под номером MT424817. Используемый в экспериментах вид хотя и напоминает по морфологическим критериям *E. paludosa*, но, по молекулярным данным, далеко отстоит от такового и по эколого-физиологическим характеристикам является морским видом. Согласно литературным материалам, *E. paludosa*, в отличие от изученного нами *Entomoneis* sp., обитает в солоноватых, слабосоленых и даже пресных водоёмах. Эксперименты по изучению пределов галотолерантности показали, что черноморские клоны *Entomoneis* sp. жизнеспособны в диапазоне, охватывающем как минимум 40 ‰ (от 8 до 48 ‰). Диапазон солёности среды, в котором *Entomoneis* sp. способен к половому воспроизведению, значительно уже и находится в пределах от 18 до 36 ‰. Определены оптимальные значения солёности для вегетативного роста и для полового воспроизведения (27,4 и 26,4 ‰ соответственно), оказавшиеся в обоих случаях выше тех значений, при которых вид обитает в природе. У *Entomoneis* sp. по мере увеличения солёности среды отмечена тенденция к уменьшению размеров инициальных клеток, образующихся в результате полового воспроизведения.

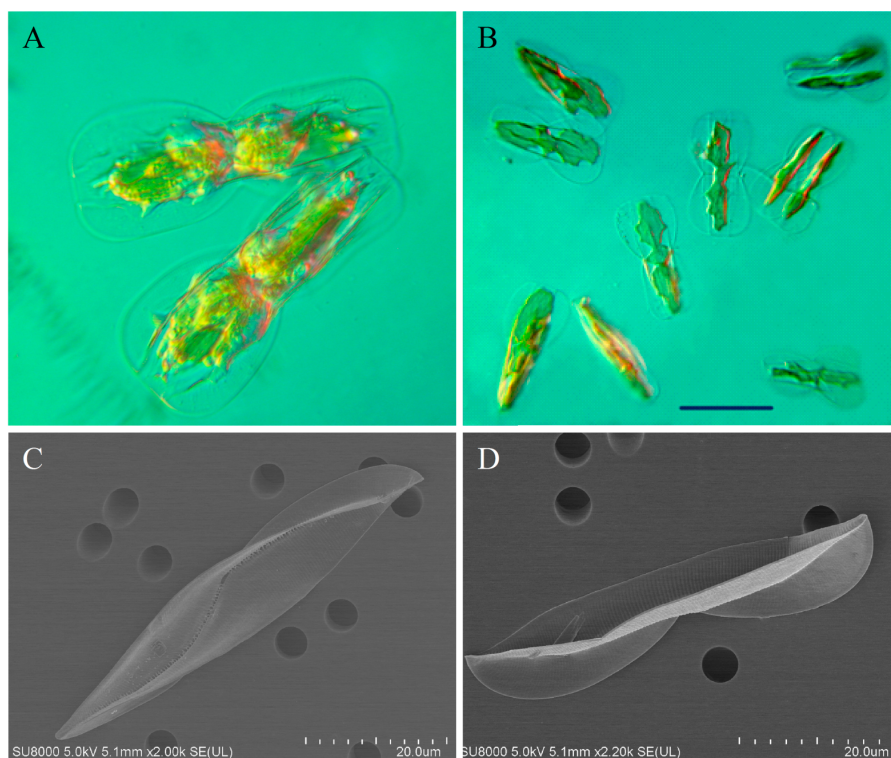
**Ключевые слова:** диатомовые водоросли, половое воспроизведение, вегетативное размножение, солёность, *Entomoneis* sp.

Пределы толерантности в отношении солёности (галотолерантность) — одна из важнейших эколого-физиологических характеристик вида. Она определяет возможность его существования в конкретной акватории (Brand, 1984). Широкая галотолерантность является одним из неперенных условий для того, чтобы вид, расселившись повсеместно, стал космополитом. Напротив, стеногалобные виды имеют намного меньше шансов на широкое распространение.

Как установлено в ходе предыдущих исследований, клоны из популяций ряда черноморских видов имеют оптимумы солёности заметно большие, чем солёность среды в местах их обитания (Davidovich & Davidovich, 2020).

Род диатомовых водорослей *Entomoneis* Ehrenberg, 1845 включает виды с уникальной морфологией: они имеют двухлопастной киль, приподнятый над поверхностью створки, сигмоидный изгиб шва и многочисленные перфорированные вставочные ободки. Род достаточно богат видами. В настоящее время в базе данных AlgaeBase (2020) указано 36 видовых и 21 внутривидовое название его представителей. Из всех названий видов 28 отмечены как принятые таксономически. В некоторых случаях мнения о валидности названий видов отличаются у разных авторов.

Установлено, что большинство видов, принадлежащих к этому роду, являются солоноватоводными или морскими; лишь некоторые из них зарегистрированы в пресных или сильно опреснённых водоёмах (Liu et al., 2018 ; Round et al., 1990). Выбранный нами для исследования черноморский представитель рода *Entomoneis* имеет морфологическое сходство с *Entomoneis paludosa* W. Smith, 1853 (рис. 1).



**Рис. 1.** *Entomoneis* sp. A, B — живые делящиеся клетки, световая микроскопия (дифференциально-интерференционный контраст), масштабный отрезок 50 мкм; C, D — створки панциря, электронные микрофотографии

**Fig. 1.** *Entomoneis* sp. A, B, alive dividing cells, light microscopy (differential interference contrast), scale bar 50 µm; C, D, valves of the frustule, scanning electron micrographs

Последний встречается в бентосе и планктоне морей и солоноватых вод, указан также для Чёрного моря (Рябушко, 2006). Однако вид, с которым мы проводили эксперименты, хотя и напоминает по морфологическим признакам *E. paludosa*, но, согласно предварительным молекулярным данным, далеко отстоит от такового в построенном филогенетическом дереве. Безусловно, следует согласиться с мнением Mejdandžić с соавторами (2018) о том, что недооценённое разнообразие *Entomoneis* требует более глубокого морфологического и молекулярного исследования этого рода, а также изучения эколого-физиологических характеристик видов, в частности

пределов толерантности к факторам среды. Учитывая широкое распространение представителей *Entomoneis* в водоёмах с различной солёностью, мы поставили задачу исследовать пределы толерантности и установить оптимальную солёность для вегетативного размножения и полового воспроизведения *Entomoneis* sp. из Чёрного моря.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В работе использовали клоны, которые были выделены микропипеточным способом из проб, отобранных у крымского и турецкого побережий Чёрного моря. Клон 7.0906-D — около г. Акчакоджа (Düzce-Akçakoca, Турция, 41°05'25"N, 31°07'26"E); клоны 8.0727-A, 8.0727-B, 8.0727-D и 8.0727-E — у полуострова Тарханкут (45°19'50"N, 32°34'36"E). Средняя длина вегетативных клеток на момент экспериментов в клонах составляла: 8.0727-A — 31 мкм; 8.0727-B — 31 мкм; 8.0727-D — 42 мкм; 8.0727-E — 42 мкм; 7.0906-D — 21 мкм. Для клона *Entomoneis* sp. 7.0906-D получена нуклеотидная последовательность гена *rbcL*, которая представлена в базе данных GenBank (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) под номером MT424817.

В эксперименте по изучению влияния солёности на половое воспроизведение диатомовой водоросли *Entomoneis* sp. задействовали активную в репродуктивном отношении пару черноморских клонов 7.0906-D + 8.0727-D. В качестве посевного материала использовали культуру в экспоненциальной стадии роста. До эксперимента культуры содержали в стеклянных чашках Петри при температуре (20 ± 2) °C в среде ESAW (Andersen et al., 2005) с модификациями (Полякова и др., 2018), солёность которой составляла 18 ‰, и при естественном освещении со стороны северного окна. Эксперименты проводили при тех же условиях освещения и температуры. В каждую чашку Петри (диаметр — 5 см) было залито по 10 мл среды с разной солёностью: 4,5; 8; 12; 18; 24; 30; 36; 42; 48; 54 ‰. Пониженную солёность получали разведением среды ESAW (36 ‰) дистиллированной водой — аналогично тому, как указано другими авторами (Караева и Джафарова, 1993 ; Bagmet et al., 2017). Среду с солёностью выше 36 ‰ готовили путём добавления к среде ESAW необходимого количества хлорида натрия. Уровень солёности измеряли ручным рефрактометром (модель RHS-10ATC, Китай). Затем в каждую чашку Петри добавляли по 30 мкл смешанного посева репродуктивно совместимых клонов. В опытах по влиянию солёности на вегетативное размножение клоновые культуры засеивали в чашки Петри — по 20 мкл в каждую — со средами с разными солёностями. Результаты полового воспроизведения оценивали на третьи, четвёртые и пятые сутки после скрещивания. На 20 полях зрения подсчитывали количество вегетативных и генеративных клеток. Оценивали количество клеток, вступивших в половой процесс, как отношение числа генеративных клеток к общему числу клеток в среднем по трём дням эксперимента. К генеративным клеткам относили гаметы, зиготы, ауксоспоры и формирующиеся инициальные клетки.

В опытах по влиянию солёности среды на вегетативный рост задействовали пять клонов для получения биологических повторностей и статистической обработки данных. Действие солёности на вегетативное размножение водоросли оценивали по скорости изменения численности клеток. Для этого под микроскопом подсчитывали количество клеток на 15 полях зрения на третий, четвёртый и пятый дни от посева. Затем определяли темп деления клеток ( $r$ , сут<sup>-1</sup>), исходя из уравнения экспоненциального роста численности:

$$N_t = N_0 \exp(r\Delta t),$$

где  $N_t$  и  $N_0$  — средняя численность клеток в поле зрения в момент времени  $t$  и в начальный момент времени  $t_0$  соответственно;

$\Delta t$  — промежуток времени между  $t$  и  $t_0$ .

Значения коэффициента  $\mu$  вычисляли по методу наименьших квадратов, используя для этого возможности программы Microsoft Excel. Для перехода к единице измерения «делений·сут<sup>-1</sup>» полученные значения  $\mu$  делили на  $\ln 2$ . Значения солёности, оптимальные для роста, определяли по положению максимума параболической функции, применяемой для аппроксимации данных. Положение максимума аппроксимирующей функции находили по значению первой производной, равному нулю.

Размеры клеток определяли, используя микроскоп Biolar PI (PZO, Польша), оборудованный калиброванной по объект-микрометру окулярной линейкой с ценой деления 1,60 мкм, при увеличении окуляра 12× и водоиммерсионного объектива 40×. Фотографии выполнены с помощью цифровой фотокамеры Canon PowerShot A640.

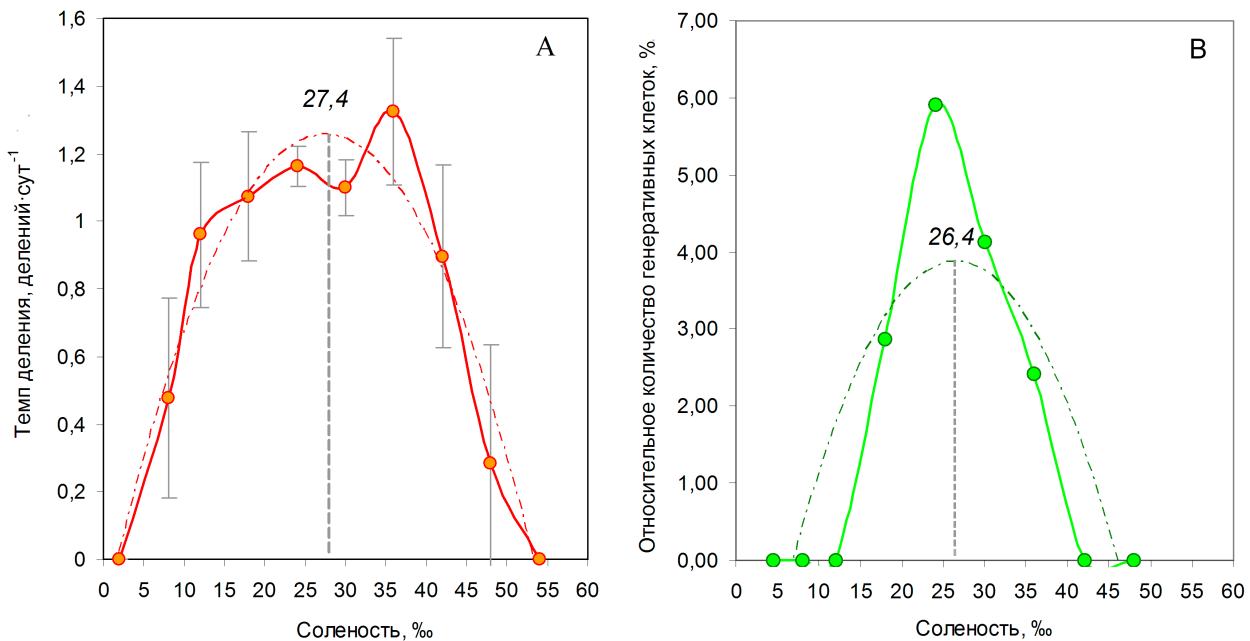
Для исследования на сканирующем электронном микроскопе клетки диатомовых водорослей очищали от органического материала кипячением в 35%-ной перекиси водорода (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) на песчаной бане в течение 2 дней по 3 часа, затем клеточную суспензию центрифугировали и промывали дистиллированной водой, повторяя операцию 7–8 раз. Несколько капель полученной суспензии помещали на алюминиевые «столики», высушивали на воздухе и покрывали золотом. Электронные микрофотографии были получены на сканирующем электронном микроскопе Hitachi SU8020.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Опыты показали, что данный вид диатомеи из рода *Entomoneis* нежизнеспособен в среде с солёностью 4,5 и 54 ‰: клетки погибали на второй день после посева. Очевидно, что чем больший скачок солёности необходимо преодолеть, тем больший стресс испытывает водоросль. Для того чтобы исключить гипоосмотический шок, мы поставили эксперимент с плавным уменьшением солёности. Клоны *Entomoneis* sp. в течение недели были адаптированы к среде 8 ‰, затем пересеяны в среду с солёностью 4,5 ‰. Результаты этого эксперимента показали, что клетки оставались живыми в течение двух суток после посева в среду с солёностью 4,5 ‰, но на третьи сутки хлоропласты начинали разрушаться, водоросль теряла способность к делению и погибала.

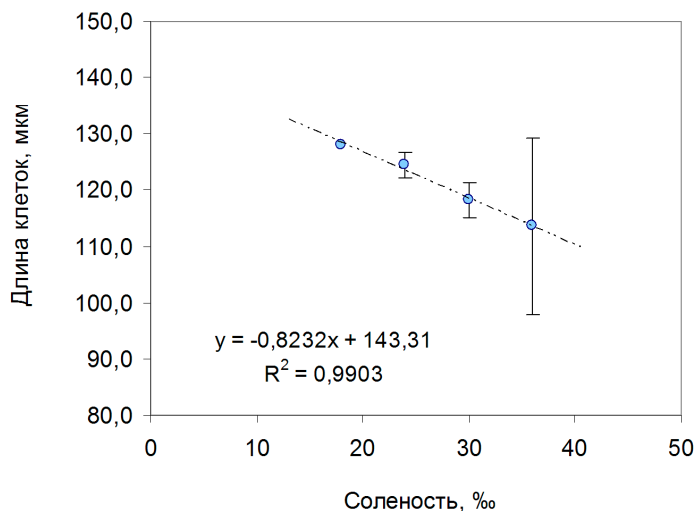
В среде с солёностью 8 и 12 ‰ клетки вегетативно размножались, средняя скорость деления для пяти клонов составила 0,48 и 0,96 делений·сут<sup>-1</sup> соответственно. При повышении солёности среды до 42 ‰ темп деления клеток оставался высоким (0,90 делений·сут<sup>-1</sup>), однако при таком уровне солёности процесс аукоспороборазования не отмечен. В среде 48 ‰ зарегистрирована положительная динамика роста численности, хотя и с небольшим темпом деления — всего 0,28 делений·сут<sup>-1</sup>. Максимальный вегетативный рост отмечен при солёности среды 27,4 ‰ (рис. 2А). Половое воспроизведение с образованием инициальных клеток происходило в грациях солёности 18, 24, 30 и 36 ‰. Повышение солёности благоприятно сказывалось на половом воспроизведении водоросли. При переносе после предварительной акклимации к 18 ‰ в среду с более высокой солёностью значительно повышалось процентное соотношение клеток, вступивших в половой процесс. Так, в среде с солёностью 18 ‰ относительное количество клеток *Entomoneis* sp., вступивших в половой процесс, было в два раза меньше, чем в среде с солёностью 24 ‰. У изученных черноморских клонов оптимальная солёность для аукоспороборазования оказалась равной 26,4 ‰ (рис. 2В).

Нами также была исследована зависимость длины инициальных клеток от уровня солёности среды (рис. 3). Диапазон размеров инициальных клеток, полученных в эксперименте, варьировал от 106 до 139 мкм.



**Рис. 2.** А — зависимость скорости деления клеток *Entomoneis* sp. от солёности среды; В — относительное количество генеративных клеток в смешанных посевах репродуктивно совместимых клонов *Entomoneis* sp. в зависимости от уровня солёности среды. Аппроксимация выполнена полиномом второй степени (штрихпунктирная линия). Штриховая линия указывает на положение оптимума

**Fig. 2.** A, dependence of the cell division rate of *Entomoneis* sp. on salinity of the medium; B, relative number of generative cells in mixed cultures of reproductively compatible *Entomoneis* sp. clones depending on the salinity level of the medium. The approximation was performed by a second-order polynomial (dashed-dotted line). The dashed line indicates the optimum position



**Рис. 3.** Зависимость длины инициальных клеток от солёности среды, при которой содержались посевы смесей пар *Entomoneis* sp. в экспериментах по скрещиванию

**Fig. 3.** Dependence of the length of initial cells on the salinity of the medium at which mixtures of *Entomoneis* sp. clones were maintained in mating experiments

## ОБСУЖДЕНИЕ

Данные об отношении представителей рода *Entomoneis* к солёности среды весьма противоречивы. В литературе можно найти сведения, например, о том, что *E. paludosa* встречается и относительно обилён в среде, солёность которой составляет менее 1 ‰ (Dalu et al., 2015). Приняв во внимание эти данные, его можно было бы отнести к обитателям пресных и слабосоленоватых вод. Другие авторы описывают вид как широко распространённый в солоноватоводных водоёмах (Куликовский и др., 2016 ; Weckstrom & Juggins, 2006). В то же время в большом количестве источников есть упоминание о нахождении *E. paludosa* в типично морской среде (Morant-Manceau et al., 2007 ; Rech et al., 2005 ; Ryabushko et al., 2019). Результаты наших исследований говорят о том, что изучавшийся нами представитель рода *Entomoneis* жизнеспособен в достаточно широком диапазоне солёности, от 8 до 48 ‰, но его нельзя считать пресноводным или солоноватоводным. При помещении в среду с солёностью менее 8 ‰ клетки быстро погибали, даже если этому предшествовала постепенная акклимация. Солёность воды Чёрного моря вблизи крымского побережья составляет 17–18 ‰. В условиях меньшей солёности существование изучавшегося представителя рода *Entomoneis* вряд ли возможно: как показывают результаты наших экспериментов, процесс аукоспорообразования ограничен диапазоном 18–36 ‰ (возможно, немного более широким с учётом принятых в экспериментах градаций). Половое воспроизведение у этого вида, как и у других изученных диатомовых, оказалось более чувствительным к условиям среды (Davidovich & Davidovich, 2020). Судя по упоминаниям *E. paludosa* в литературе (обширный список представлен в AlgaeBase), его следует считать космополитом, населяющим водоёмы с разной солёностью — от пресноводных до типично морских. Напрашивается вопрос: действительно ли все те диатомовые, которые встречаются в принципиально различных условиях солёности и которых относят к виду *E. paludosa*, таковыми и являются? Как это часто бывает в диатомологии, на первый план выходит проблема идентификации видов. Если допустить, что во всех случаях вид был идентифицирован корректно, то закономерно возникает следующий вопрос: возможно ли столь широкий диапазон галотолерантности соотнести с одним видом? Действительно, известны некоторые виды, обладающие очень широкой толерантностью к условиям солёности. Например, *Nitzschia palea* (Kützing) W. Smith способна развиваться при солёности от 0 до 22 ‰ (Bagmet et al., 2017 ; Trobajo et al., 2011). В ещё более широких пределах, от 0,5 до 49 ‰ (возможно, и выше), способна существовать *Tabularia tabulata* (C. A. Agardh) Snoeijjs, причём половое воспроизведение у неё также происходило в очень широком диапазоне, от 8 до 49 ‰ (Давидович, 2017). Диапазон галотолерантности изученного нами представителя *Entomoneis*, как отмечено выше, сравнительно более узкий. Что касается солетолерантности *E. paludosa*, то до того, как будут получены фактические данные, относящиеся к этому виду, делать какие-либо выводы преждевременно.

Небезынтересным представляется вопрос о влиянии солёности на размер инициальных клеток, формирующихся в результате полового воспроизведения. От начальных размеров зависит продолжительность жизненного цикла клонов новой генерации. В экспериментах с центральной диатомовой водорослью *Coscinodiscus wailesii* Gran было установлено, что в условиях более высокой солёности формировались инициальные клетки меньшего размера (Nagai & Imai, 1999). У *T. tabulata* размеры инициальных клеток не зависели от солёности среды (Давидович, 2017). Эти примеры показывают, что реакция организмов на солёность среды видохарактерна. Согласно полученным данным, у *Entomoneis* sp. с увеличением солёности среды отмечена тенденция к уменьшению размеров инициальных клеток. Однако, поскольку образующиеся инициальные клетки по размерам отличались незначительно (примерно на 10–15 %), потенциальная продолжительность существования клонов новой генерации не будет заметно разниться.

Таким образом, *Entomoneis* sp., обитающего в Чёрном море, можно отнести к эвригалинным организмам с диапазоном толерантности по отношению к солёности среды от 8 до 48 ‰ для вегетативного размножения и от 18 до 36 ‰ (возможно, немного более широким) для полового воспроизведения. Оптимальная солёность для вегетативного размножения — 27,4 ‰, для полового воспроизведения — 26,4 ‰, что значительно превосходит показатели солёности воды в Чёрном море в местах его существования. Не исключено, что более детальное изучение черноморского представителя рода *Entomoneis* даст основания для описания нового вида.

*Работа выполнена в рамках государственного задания КНС — ПЗ РАН — филиала ФИЦ ИнБЮМ «Изучение фундаментальных физических, физиолого-биохимических, репродуктивных, популяционных и поведенческих характеристик морских гидробионтов» (№ гос. регистрации 121032300019-0). Отбор проб на турецком побережье поддержан программой обмена TR-YÖK-Proje Tabanlı Değişim Programı (грант № MEV-2016-46).*

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Давидович О. И. Влияние солёности на вегетативный рост и половое воспроизведение диатомовой водоросли *Tabularia tabulata* (С. А. Agardh) Snoeijs // *Актуальные проблемы биоразнообразия и природопользования* : материалы Всероссийской научно-практической конференции, Керчь, 26 сентября – 1 октября 2017 г. Симферополь : АРИАЛ. 2017. С. 38–43. [Davidovich O. I. Vliyaniye solenosti na vegetativnyi rost i polovoe vosproizvedeniye diatomovoi vodorosli *Tabularia tabulata* (С. А. Agardh) Snoeijs. In: *Aktual'nye problemy bioraznoobraziya i prirodopol'zovaniya* : materialy Vserossiiskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii, Kerch, 26 September – 1 October, 2017. Simferopol : ARIAL, 2017, pp. 38–43. (in Russ.)]
2. 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.)]
3. Куликовский М. С., Глущенко А. М., Генкал С. И., Кузнецова И. В. *Определитель диатомовых водорослей России*. Ярославль : Филигрань, 2016. 804 с. [Kulikovskiy M. S., Glushchenko A. M., Genkal S. I., Kuznetsova I. V. *Opredelitel' diatomovykh vodoroslei Rossii*. Yaroslavl : Filigran', 2016, 804 p. (in Russ.)]
4. 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. 73–80. [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>
5. Рябушко Л. И. *Микроводоросли бентоса Чёрного моря (чек-лист, синонимика, комментарий)*. Севастополь : ЭКОСИ-Гидрофизика, 2006. 143 с. [Ryabushko L. I. *Microalgae of the Black Sea Benthos (Check-list, Synonyms, Comment)*. Sevastopol : EKOSI-Gidrofizika, 2006, 143 p. (in Russ.)]
6. *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway / Guiry M. D., Guiry G. M. (Eds) : [site], 2020. URL: <http://www.algaebase.org> [accessed: 27.05.2020].
7. Andersen R. A., Berges J. A., Harrison P. J., Watanabe M. M. Recipes for freshwater and seawater media. In: *Algal Culturing Techniques*. Amsterdam : Elsevier Academic Press, 2005, pp. 429–538.
8. Bagmet V. B., Abdullin Sh. R., Kuluev B. R., Davidovich O. I., Davidovich N. A. The effect of salinity on the reproduction rate of *Nitzschia palea* (Kützing) W. Smith (Bacillariophyta) clones. *Russian Journal of Ecology*, 2017, vol. 48, iss. 3, pp. 287–289. <https://doi.org/10.1134/S1067413617030043>
9. Brand L. E. The salinity tolerance of forty-six marine phytoplankton isolates. *Estuarine*,

- Coastal and Shelf Science*, 1984, vol. 18, iss. 5, pp. 543–556. [https://doi.org/10.1016/0272-7714\(84\)90089-1](https://doi.org/10.1016/0272-7714(84)90089-1)
10. Dalu T., Taylor J. C., Richoux N. B., Frone-man W. A re-examination of the type material of *Entomoneis paludosa* (W. Smith) Reimer and its morphology and distribution in African waters. *Fottea*, 2015, vol. 15, iss. 1, pp. 1–25. <https://doi.org/10.5507/fot.2015.002>
  11. Davidovich N. A., Davidovich O. I. Salinity optima for vegetative growth and sexual reproduction of the diatom *Toxarium undulatum*. *Morskoj biologicheskij zhurnal*, 2020, vol. 5, no. 1, pp. 20–28. <https://doi.org/10.21072/mbj.2020.05.1.03>
  12. Liu B., Williams D. M., Ector L. *Entomoneis triundulata* sp. nov. (Bacillariophyta), a new freshwater diatom species from Dongting Lake, China. *Cryptogamie, Algologie*, 2018, vol. 39, iss. 2, pp. 239–253. <https://doi.org/10.7872/crya/v39.iss2.2018.239>
  13. Mejdandžić M., Bosak S., Nakov T., Ruck E., Orlić S., Gligora Udovič M., Peharec Štefanić P., Špoljarić I., Mršić G., Ljubešić Z. Morphological diversity and phylogeny of the diatom genus *Entomoneis* (Bacillariophyta) in marine plankton: Six new species from the Adriatic Sea. *Journal of Phycology*, 2018, vol. 54, iss. 2, pp. 275–298. <https://doi.org/10.1111/jpy.12622>
  14. Morant-Manceau A., Nhung Nguyen T. L., Pradier E., Tremblin G. Carbonic anhydrase activity and photosynthesis in marine diatoms. *European Journal of Phycology*, 2007, vol. 42, iss. 3, pp. 263–270. <https://doi.org/10.1080/09670260701425522>
  15. Nagai S., Imai I. The effect of salinity on the size of initial cells during vegetative cell enlargement of *Coscinodiscus wailesii* (Bacillariophyta) in culture. *Diatom Research*, 1999, vol. 14, iss. 2, pp. 337–342. <https://doi.org/10.1080/0269249X.1999.9705475>
  16. Rech M., Mouget J.-L., Morant-Manceau A., Rosa P., Tremblin G. Long-term acclimation to UV radiation: Effects on growth, photosynthesis and carbonic anhydrase activity in marine diatoms. *Botanica Marina*, 2005, vol. 48, iss. 5, pp. 407–420. <https://doi.org/10.1515/bot.2005.054>
  17. Round F. E., Crawford R. M., Mann D. G. *The Diatoms: Biology and Morphology of the Genera*. Cambridge : Cambridge University Press, 1990, 747 p. <https://doi.org/10.1017/S0025315400059245>
  18. Ryabushko L. I., Lishaev D. N., Kovrigina N. K. Species diversity of epilithon diatoms and the quality of the waters of the Donuzlav Gulf ecosystem (Crimea, the Black Sea). *Diversity*, 2019, vol. 11, iss. 7, art. no. 114 (12 p.). <https://doi.org/10.3390/d11070114>
  19. Trobajo R., Rovira L., Mann D. G., Cox E. J. Effects of salinity on growth and on valve morphology of five estuarine diatoms. *Phycological Research*, 2011, vol. 59, iss. 2, pp. 83–90. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1835.2010.00603.x>
  20. Weckstrom K., Juggins S. Coastal diatom–environment relationships from the Gulf of Finland, Baltic Sea. *Journal of Phycology*, 2006, vol. 42, iss. 1, pp. 21–35. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2006.00166.x>

## HALOTOLERANCE LIMITS OF THE BLACK SEA REPRESENTATIVE OF THE GENUS *ENTOMONEIS* EHRENBERG, 1845 (BACILLARIOPHYTA)

O. I. Davidovich<sup>1</sup>, N. A. Davidovich<sup>1</sup>, Yu. A. Podunay<sup>1</sup>, and C. N. Solak<sup>2</sup>

<sup>1</sup>T. I. Vyazemsky Karadag Scientific Station – Nature Reserve of RAS –  
Branch of IBSS, Feodosiya, Russian Federation

<sup>2</sup>Kütahya Dumlupınar University, Faculty of Arts and Sciences, Department of Biology, Kütahya, Turkey  
E-mail: [olivdav@mail.ru](mailto:olivdav@mail.ru)

The genus *Entomoneis* Ehrenberg, 1845 is quite rich in species. Underestimated diversity of this genus requires its deeper morphological and molecular study, as well as an investigation of ecological and physiological characteristics of its species – specifically, their tolerance limits to environmental factors. Considering the distribution of *Entomoneis* species in water bodies with various salinity,



we aimed at studying the tolerance limits and determining optimal salinity for vegetative growth and sexual reproduction of the diatom *Entomoneis* sp. from the Black Sea. We used reproductively compatible clonal cultures isolated from samples taken on the Crimean and Turkish Black Sea coasts. For *Entomoneis* sp. clone 7.0906-D, the nucleotide sequence of the *rbcL* gene was obtained; it is presented in the GenBank database under the number MT424817. Morphologically, the studied species resembles *E. paludosa*; according to molecular data, it is far from it. In accordance with its ecological and physiological characteristics, this species is a marine one. According to published material available, *E. paludosa*, unlike *Entomoneis* sp., inhabits brackish, slightly saline, and even fresh water bodies. Experiments on halotolerance show the following: the Black Sea clones of *Entomoneis* sp. are viable in a range of at least 40 ‰ (8 to 48 ‰). A salinity range of the medium within which *Entomoneis* sp. revealed sexual reproduction is much narrower – 18 to 36 ‰. Optimal salinity values for vegetative growth and sexual reproduction were determined (27.4 and 26.4 ‰, respectively); those turned out to be higher in both cases than the values in the natural habitat of this species. As salinity of the medium increased, *Entomoneis* sp. initial cells resulting from sexual reproduction tended to decrease in size.

**Keywords:** diatoms, sexual reproduction, vegetative growth, salinity, *Entomoneis* sp.