

УДК 582.261.1-114.3:57.043

**ВОЗДЕЙСТВИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА РОСТ
ДВУХ ВИДОВ *PSEUDO-NITZSCHIA* Н. PERAGALLO (BACILLARIOPHYTA)
В ЛАБОРАТОРНЫХ КУЛЬТУРАХ, ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ ЯПОНСКОГО МОРЯ**

© 2025 г. А. А. Зинов, И. В. Стоник

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

Поступила в редакцию 03.12.2024; после доработки 30.01.2025;
принята к публикации 12.08.2025.

Диатомовые водоросли рода *Pseudo-nitzschia* Н. Peragallo, 1900, продуцирующие нейротоксичную домоевую кислоту, нередко интенсивно размножаются в дальневосточных морях России, что вызывает цветения воды. Температура известна как важный фактор, влияющий на развитие диатомей, однако его воздействие на рост этой группы микроводорослей из Японского моря исследовано недостаточно. Изучены особенности роста в лабораторной культуре двух видов диатомей — *Pseudo-nitzschia fraudulenta* (Cleve) Hasle, 1993 и *Pseudo-nitzschia hasleana* Lundholm, 2012 — в диапазоне температуры от +5 до +20 °С. Методом прямого подсчёта в камере Нажотта оценены плотность клеток, темпы роста и время генерации. Установлено, что максимальная средняя плотность клеток *P. fraudulenta* достигала $2,2 \times 10^5$ кл.·л⁻¹ на 16-е сутки опыта при +18 °С. Для этого вида при +18 °С темпы роста (0,11–0,16 дел.·сут⁻¹) оставались относительно высокими, а время генерации (4,4–6,7 сут) — относительно низким в течение большей части эксперимента. Максимальная средняя плотность клеток *P. hasleana*, 5×10^5 кл.·л⁻¹, отмечена на 16-е сутки опыта при +17 °С. Для этого вида высокие темпы роста (0,2–0,92 дел.·сут⁻¹) и низкое время генерации (0,8–3,6 сут) зарегистрированы при +17 °С с 2-х по 10-е сутки эксперимента. Средняя плотность клеток *P. fraudulenta* при +18 °С оказалась статистически достоверно выше, чем при других изученных значениях температуры (тест Тьюки, $p < 0,05$) на протяжении всего опыта. Средняя плотность клеток *P. hasleana* при +17 °С была статистически значимо выше (тест Тьюки, $p < 0,05$) таковой при других температурах на 8–12-е сутки эксперимента. Установлено, что при выращивании клонов *P. fraudulenta* при +10, +16 и +18 °С и клонов *P. hasleana* при +14, +17 и +20 °С клетки оставались в жизнеспособном состоянии и продолжали делиться. При понижении температуры культивирования *P. fraudulenta* и *P. hasleana* до +5 и +7 °С соответственно деление резко замедлялось, а плотность клеток была статистически значимо ниже, чем при более высокой температуре (тест Тьюки, $p < 0,05$). Установлены диапазоны толерантной температуры при выращивании диатомей — от +10 до +18 °С для *P. fraudulenta* и от +14 до +17 °С для *P. hasleana*. Выявленные нижние границы температурных условий для культивирования двух видов (+10 и +14 °С) согласуются с параметрами температуры воды в природной среде, при которых отмечены цветения *P. fraudulenta* (+6...+16 °С) и *P. hasleana* (+10...+16 °С). Показаны широкие адаптивные возможности изученных видов по отношению к температуре.

Ключевые слова: *Pseudo-nitzschia fraudulenta*, *Pseudo-nitzschia hasleana*, лабораторное культивирование, температура, Японское море

Диатомовые водоросли рода *Pseudo-nitzschia* H. Peragallo, 1900 являются доминирующим таксоном токсичных планктонных микроводорослей в северо-западной части Японского моря: на его долю приходится 75–98 % от общей плотности фитопланктона в сезоны цветения [Orlova et al., 2008]. Они известны как потенциальные продуценты нейротоксичной домоевой кислоты [Bates et al., 2018; Liu et al., 2021; Zhou et al., 2024] и относятся к одной из наиболее многочисленных групп токсичного фитопланктона, регулярно вызывающей цветения воды в дальневосточных морях России [Стоник, Орлова, 2018; Stonik, 2021; Stonik et al., 2011, 2019]. Температура играет решающую роль в метаболических процессах Bacillariophyta и других микроводорослей, влияет на фотосинтез и усвоение питательных веществ, воздействует на ферментативные процессы в клетках [Клочкова, Лелеков, 2022; Кузьмин, 2025; Claquin et al., 2008; Davison et al., 1991; Raven, Geider, 1988]. Таким образом, температура — важный фактор, обуславливающий возникновение и развитие цветения диатомовых водорослей [Рябушко и др., 2008; Fu et al., 2012]. Исследователи регулярно отмечают в заливе Петра Великого Японского моря виды *Pseudo-nitzschia fraudulenta* (Cleve) Hasle, 1993 и *Pseudo-nitzschia hasleana* Lundholm, 2012 как важный компонент фитопланктона, участвующий в формировании цветений воды [Стоник, Орлова, 2018; Stonik, Zinov, 2023; Stonik et al., 2008]. Однако факторы окружающей среды, влияющие на обилие и физиологическое состояние *Pseudo-nitzschia* spp. из Японского моря, в первую очередь температура, проанализированы недостаточно.

В связи с этим цель настоящей работы — экспериментально изучить воздействие температуры на динамику плотности, скорость деления и время генерации в лабораторных культурах диатомовых водорослей *Pseudo-nitzschia fraudulenta* и *P. hasleana*, изолированных из вод российского сектора Японского моря.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объект исследования — альгологически чистые культуры диатомовых водорослей рода *Pseudo-nitzschia*, изолированные из залива Петра Великого Японского моря. Культура *P. fraudulenta* (клон MBRU-PF-16) изолирована из Амурского залива (N43.2°, E131.91°) в ноябре 2016 г. при температуре воды +5,2 °С. Культура *P. hasleana* (клон MBRU-PH-18) изолирована из бухты Патрокл Уссурийского залива (N43.07°, E131.96°) в ноябре 2018 г. при температуре воды +6,8 °С. Культуры поддерживаются в ЦКП РК «Морской биобанк» ННЦМБ ДВО РАН [2024].

Культуры выращивали на питательной среде f/2 [Guillard, Ryther, 1962]. Перед началом эксперимента оба клона адаптировали к исследуемым температурам в течение четырёх суток. В качестве инокулята использовали культуры на экспоненциальной стадии роста. Культуры для эксперимента переносили в колбы Эрленмейера (250 мл) с объёмом культуральной суспензии 200 мл; интенсивность светового потока составляла 3500 люкс, свето-темновой период — 12 ч : 12 ч (свет : темнота). Культуры *P. fraudulenta* и *P. hasleana* выращивали при температурах +5, +10, +16, +18 °С и +7, +14, +17, +20 °С соответственно в трёх колбах при каждом значении. Для создания необходимых температурных условий использовали климатические камеры Binder KBW 400 (Германия). Освещение в камерах обеспечивали люминесцентные лампы дневного света. Интенсивность светового потока измеряли с помощью люксметра UNI-T mini UT383 00-00007443 (UNI-T, Китай). Эксперименты проводили в трёх повторностях.

Плотность клеток оценивали путём прямого подсчёта в камере Нажотта объёмом 0,05 мл, используя световой микроскоп Olympus VX41 (Япония) при увеличении 20х. Подсчёт клеток проводили каждые двое суток. Образцы для количественного анализа отбирали в трёх повторностях через 2–3 ч после окончания темнового периода, при этом суспензию тщательно перемешивали и фиксировали раствором Утермея [Фёдоров, 1979].

Удельную скорость роста культуры рассчитывали по данным концентрации клеток по формуле [Заика, 1972]:

$$\mu = \frac{\ln X_1 - \ln X_0}{T_1 - T_0},$$

где X_1 и X_0 — значения концентрации, соответствующие времени роста T_1 и T_0 .

Время удвоения плотности клеток (время генерации) определяли по формуле [Jones et al., 1963]:

$$g = \frac{\ln 2}{\mu} = \frac{0,693}{\mu},$$

где g — время генерации;

μ — удельная скорость роста.

Проверку на наличие достоверной связи между температурой, возрастом культуры и плотностью клеток выполняли с помощью двухфакторного дисперсионного анализа. Данные о плотности клеток, скорости роста и времени генерации в зависимости от температуры подвергали однофакторному дисперсионному анализу. Использовали тест Тьюки для множественных сравнений средних. Все вычисления выполнены в программе Statistica 7.0 [StatSoft, 2025].

РЕЗУЛЬТАТЫ

С помощью двухфакторного дисперсионного анализа установлено, что оба рассмотренных в эксперименте фактора — температура и возраст культуры — и их взаимодействие оказались статистически значимыми ($p < 0,001$), влияющими на плотность клеток *Pseudo-nitzschia* spp. (табл. 1).

Таблица 1. Результаты двухфакторного дисперсионного анализа влияния условий культивирования *Pseudo-nitzschia fraudulenta* и *P. hasleana* на плотность клеток

Table 1. Results of a two-factor analysis of variance on the effect of *Pseudo-nitzschia fraudulenta* and *P. hasleana* cultivation conditions on cell density

Фактор	<i>F</i>		<i>p</i>
	<i>Pseudo-nitzschia fraudulenta</i>	<i>Pseudo-nitzschia hasleana</i>	
Температура	942,3	12 764,37	0,00
Возраст культуры	373,7	477,33	0,00
	42,8	1238,92	0,00

Примечание: все значения коэффициентов корреляции — критерия Фишера (F) и вероятности (p) — были достоверными.

Note: all values of the correlation coefficients, the Fisher's criterion (F) and probability (p), were significant.

Динамика плотности *P. fraudulenta* и *P. hasleana* в условиях культивирования при разных значениях температуры представлена на рис. 1.

Pseudo-nitzschia fraudulenta. Начальная плотность клеток в опыте составляла $3,7 \times 10^3$ кл.·л⁻¹. На протяжении всего эксперимента по культивированию *P. fraudulenta* происходило увеличение общей плотности клеток в диапазоне температуры от +10 до +18 °С (рис. 1А). Максимальная средняя плотность ($2,2 \times 10^5$ кл.·л⁻¹) отмечена на 16-е сутки опыта при +18 °С, а минимальная ($8,6 \times 10^3$ кл.·л⁻¹) — на 2-е сутки при +5 °С. При снижении температуры культивирования до +5 °С средняя плотность составляла $2,8 \times 10^4$ кл.·л⁻¹ на 16-е сутки, что приблизительно на порядок ниже, чем в конце эксперимента при +18 °С. Средняя плотность клеток при +18 °С оказалась статистически достоверно выше (тест Тьюки, $p < 0,05$), чем при других

значениях температуры в течение всего опыта. С 4-х суток культивирования и до конца эксперимента не было выявлено статистически достоверных различий между средними значениями плотности при температуре +10 и +16 °C (рис. 1А, табл. 2).

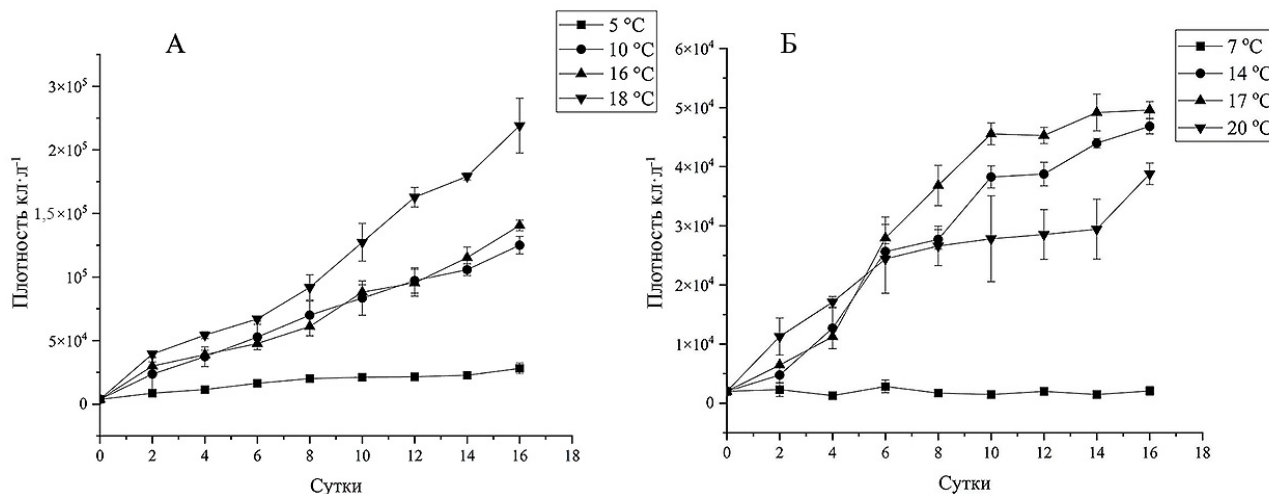


Рис. 1. Динамика плотности клеток *Pseudo-nitzschia fraudulenta* (А) и *P. hasleana* (Б) при разных значениях температуры (показаны средние значения и стандартные отклонения)

Fig. 1. Dynamics of cell densities of *Pseudo-nitzschia fraudulenta* cells (А) and *P. hasleana* cells (Б) at different temperature (the means and standard deviations are given)

Таблица 2. Статистически значимые различия между кривыми плотности клеток *Pseudo-nitzschia fraudulenta* при разной температуре на основе матрицы Тьюки при $p < 0,05$

Table 2. Statistically significant differences between *Pseudo-nitzschia fraudulenta* cell abundance curves at different temperature based on the Tukey matrix at $p < 0.05$

Сутки	Температура, °C			
	+5	+10	+16	+18
2-е	+10, +16, +18	+5, +16, +18	+5, +10, +18	+5, +10, +16
4-е	+10, +16, +18	+5, +18	+5, +18	+5, +10, +16
6-е	+10, +16, +18	+5, +18	+5, +18	+5, +10, +16
8-е	+10, +16, +18	+5, +18	+5, +18	+5, +10, +16
10-е	+10, +16, +18	+5, +18	+5, +18	+5, +10, +16
12-е	+10, +16, +18	+5, +18	+5, +18	+5, +10, +16
14-е	+10, +16, +18	+5, +18	+5, +18	+5, +10, +16
16-е	+10, +16, +18	+5, +18	+5, +18	+5, +10, +16

Средние темпы роста при культивировании при +5 °C (0,1–0,18 дел.·сут⁻¹) и +10 °C (0,14–0,23 дел.·сут⁻¹) оказались выше, чем при остальных значениях температуры с 2-х по 6–8-е сутки опыта. С 8-х по 14-е сутки темпы роста снижались, достигая минимума (0,01 дел.·сут⁻¹) при наибольшем времени генерации (40,5 сут) на 10–12-е сутки при +5 °C (табл. 3).

Культивирование при +16 и +18 °C выявило относительно высокие темпы роста (0,11–0,16 дел.·сут⁻¹) и низкие значения времени генерации (4,4–6,9 сут) на протяжении большей части опыта, с 2-х по 12-е сутки (табл. 3). На 12–14-е сутки при +16...+18 °C отмечены снижение скорости роста и увеличение времени генерации по сравнению со значениями в предыдущие периоды культивирования (с 2-х по 12-е сутки) (табл. 3).

Таблица 3. Скорость роста (дел.·сут⁻¹) и время генерации (сут) при культивировании *Pseudo-nitzschia fraudulenta* при разных значениях температуры

Table 3. Growth rate (div.·day⁻¹) and generation time (days) during *Pseudo-nitzschia fraudulenta* cultivation at different temperature

Сутки	+5 °С		+10 °С		+16 °С		+18 °С	
	μ	g	μ	g	μ	g	μ	g
2–4-е	0,14 ± 0,063	5,5 ± 1,902	0,23 ± 0,067	3,3 ± 0,631	0,13 ± 0,011	5,3 ± 0,234	0,16 ± 0,016	4,4 ± 0,267
4–6-е	0,18 ± 0,051	4,1 ± 1,070	0,17 ± 0,056	4,2 ± 1,187	0,1 ± 0,024	6,9 ± 1,464	0,11 ± 0,015	6,7 ± 1,039
6–8-е	0,1 ± 0,051	9,2 ± 5,016	0,14 ± 0,056	6,4 ± 4,450	0,12 ± 0,024	6,1 ± 2,258	0,16 ± 0,015	4,7 ± 1,520
8–10-е	0,03 ± 0,051	35,1 ± 17,094	0,09 ± 0,056	11,4 ± 5,253	0,11 ± 0,024	6,4 ± 1,340	0,16 ± 0,015	4,5 ± 1,548
10–12-е	0,01 ± 0,004 ^{b,c}	40,5 ± 2,428 ^{a,c}	0,08 ± 0,031	10,5 ± 5,477 ^a	0,11 ± 0,020 ^b	6,4 ± 1,240 ^b	0,12 ± 0,037 ^c	5,9 ± 2,141 ^c
12–14-е	0,03 ± 0,004 ^{b,c}	31,5 ± 12,416	0,04 ± 0,031	16,6 ± 2,056	0,1 ± 0,020 ^b	7,8 ± 2,554	0,05 ± 0,037 ^c	15,8 ± 5,026
14–16-е	0,1 ± 0,004 ^{b,c}	11 ± 5,004	0,08 ± 0,031	8,7 ± 2,199	0,1 ± 0,020 ^b	7,4 ± 2,112	0,1 ± 0,037 ^c	7,7 ± 2,535

Примечание: приведены значения скорости роста (столбец μ) и времени генерации (столбец g), а также доверительные интервалы для этих показателей. В сносках к средним значениям указаны результаты, которые статистически различаются (тест Тьюки, $p < 0,05$) при следующих условиях культивирования: +5 и +10 °С (а); +5 и +16 °С (б); +5 и +18 °С (с).

Note: the values of growth rates and generation time are provided in the columns μ and g, respectively, with confidence intervals. Footnotes to the means mark results that are statistically significantly different (Tukey's test, $p < 0.05$) under the following cultivation conditions: +5 and +10 °С (a); +5 and +16 °С (b); +5 and +18 °С (c).

Небольшое увеличение темпов роста в конце эксперимента, на 14–16-е сутки, при температуре +5, +10 и +18 °С существенно уступало этим показателям в первой половине опыта (табл. 3). Статистически значимые различия средних темпов роста (тест Тьюки, $p < 0,05$) при +5 и +16 °С, а также при +5 и +18 °С отмечены на 10–14-е сутки культивирования. Темпы роста при +5 °С в течение большей части эксперимента оказались существенно ниже, чем при более высокой температуре (табл. 3), что определило низкую плотность клеток в опыте при +5 °С (рис. 1А).

***Pseudo-nitzschia hasleana*.** Начальная плотность клеток в опыте составляла 2×10^3 кл.·л⁻¹. На протяжении всего эксперимента по культивированию *P. hasleana* было зарегистрировано увеличение общей плотности клеток в диапазоне температуры от +14 до +20 °С (рис. 1Б).

Максимальная средняя плотность (5×10^5 кл.·л⁻¹) отмечена на 16-е сутки опыта при +17 °С, а минимальная ($1,3 \times 10^3$ кл.·л⁻¹) — на 4-е сутки при +7 °С. При температуре культивирования +7 °С на 6-е сутки плотность клеток возросла до $2,8 \times 10^3$ кл.·л⁻¹, затем снизилась; только на 12-е сутки значение увеличилось до 2×10^3 кл.·л⁻¹ и оставалось на этом уровне до конца эксперимента (рис. 1Б). Различия средней плотности при всех изученных температурах (+7, +14, +17 и +20 °С) оказались статистически значимыми (тест Тьюки, $p < 0,05$) только на 10–12-е сутки опыта (табл. 4).

Средняя плотность клеток при +17 °С была статистически значимо выше (тест Тьюки, $p < 0,05$) таковой для всех остальных температур на 8–12-е сутки опыта (табл. 4). На 14–16-е сутки эксперимента не отмечено статистически достоверных различий между средними значениями плотности при +14 и +17 °С (рис. 1Б, табл. 4).

Таблица 4. Статистически значимые различия между кривыми плотности клеток *Pseudo-nitzschia hasleana* при разной температуре на основе матрицы Тьюки при $p < 0,05$

Table 4. Statistically significant differences between *Pseudo-nitzschia hasleana* cell abundance curves at different temperature based on the Tukey matrix at $p < 0.05$

Сутки	Температура, °C			
	+7	+14	+17	+20
2-е	+17, +20	+20	+7, +20	+7, +14, +17
4-е	+14, +17, +20	+7	+7	+7
6-е	+14, +17, +20	+7	+7, +20	+7, +17
8-е	+14, +17, +20	+7, +17	+7, +14, +20	+7, +17
10-е	+14, +17, +20	+7, +17, +20	+7, +14, +20	+7, +14, +17
12-е	+14, +17, +20	+7, +17, +20	+7, +14, +20	+7, +14, +17
14-е	+14, +17, +20	+7, +20	+7, +20	+7, +14, +17
16-е	+14, +17, +20	+7	+7, +20	+7, +17

В условиях культивирования *P. hasleana* при температуре +14, +17 и +20 °C высокие значения скорости роста зарегистрированы в первой половине опыта, а при выращивании при +7 °C — во второй его половине (табл. 5).

Таблица 5. Скорость роста (дел.сут⁻¹) и время генерации (сут) при культивировании *Pseudo-nitzschia hasleana* при разных значениях температуры

Table 5. Growth rate (div.·day⁻¹) and generation time (days) during *Pseudo-nitzschia hasleana* cultivation at different temperature

Сутки	+7 °C		+14 °C		+17 °C		+20 °C	
	μ	g	μ	g	μ	g	μ	g
2–4-е	0,08 ± 0,003 ^{a-c}	8,7 ± 0,347 ^{a-c}	0,98 ± 0,075 ^{a,d,e}	0,7 ± 0,054 ^a	0,54 ± 0,164 ^{b,d,e}	1,4 ± 0,506 ^b	0,47 ± 0,130 ^{c,e}	1,6 ± 0,447 ^c
4–6-е	0,05 ± 0,023 ^{a-c}	15,5 ± 5,613 ^{a-c}	0,73 ± 0,240 ^a	1,0 ± 0,283 ^a	0,92 ± 0,159 ^b	0,8 ± 0,138 ^b	0,20 ± 0,097 ^c	4,0 ± 1,876 ^c
6–8-е	0,07 ± 0,001 ^{b,c}	9,8 ± 0,200 ^{b-e}	0,54 ± 0,031 ^{a,d-e}	6,4 ± 2,368 ^{d,e}	0,28 ± 0,033 ^{b,d}	2,5 ± 0,323 ^{b,d}	0,22 ± 0,050 ^{c,e}	3,3 ± 0,888 ^{c,e}
8–10-е	0,16 ± 0,001 ^{b,c}	4,8 ± 2,086	0,32 ± 0,031 ^{d,e}	2,1 ± 0,089 ^e	0,20 ± 0,033 ^{b,d}	3,6 ± 1,167	0,08 ± 0,010 ^{c,e}	11,4 ± 5,949 ^e
10–12-е	0,15 ± 0,049 ^{a-c}	4,9 ± 1,796 ^a	0,01 ± 0,008 ^a	7,2 ± 1,190 ^a	0,02 ± 0,016 ^b	18,3 ± 3,928	0,06 ± 0,017 ^c	12,1 ± 3,136
12–14-е	0,25 ± 0,049 ^{a-c}	2,9 ± 0,464 ^{b,c}	0,14 ± 0,008 ^a	5,3 ± 1,942	0,07 ± 0,016 ^b	12,1 ± 5,488 ^b	0,06 ± 0,017 ^c	11,0 ± 1,865 ^c
14–16-е	0,31 ± 0,049 ^{a,b}	2,3 ± 0,464 ^{b,c}	0,04 ± 0,017 ^a	9,7 ± 1,942	0,01 ± 0,020 ^b	8,1 ± 5,488 ^b	0,19 ± 0,123	5,1 ± 1,865 ^c

Примечание: приведены значения скорости роста (столбец μ) и времени генерации (столбец g), а также доверительные интервалы для этих показателей. В сносках к средним значениям приведены результаты, которые статистически различаются (тест Тьюки, $p < 0,05$) при следующих условиях культивирования: +7 и +14 °C (a); +7 и +17 °C (b); +7 и +20 °C (c); +14 и +17 °C (d); +14 и +20 °C (e).

Note: the values of growth rates and generation time are provided in the columns μ and g, respectively, with confidence intervals. Footnotes to the means mark results that are statistically significantly different (Tukey's test, $p < 0.05$) under the following cultivation conditions: +7 and +14 °C (a); +7 and +17 °C (b); +7 and +20 °C (c); +14 and +17 °C (d); +14 and +20 °C (e).

Так, при температуре +14 °С самые высокие темпы роста (0,73–0,98 дел.·сут⁻¹) отмечены с 2-х по 6-е сутки. С 6–8-х по 8–10-е сутки темпы снижались с 0,54 до 0,32 дел.·сут⁻¹. С 10–12-х суток и до конца опыта скорость роста при этой температуре оказалась относительно низкой, с минимумом (0,01 дел.·сут⁻¹) на 10–12-е сутки (табл. 5). Высокие темпы роста (0,2–0,92 дел.·сут⁻¹) зарегистрированы при +17 °С с 2-х по 10-е сутки эксперимента, а при +20 °С — с 2-х по 8-е сутки (0,2–0,47 дел.·сут⁻¹). С 10-х суток и до конца опыта темпы роста при +14, +17 и +20 °С резко снизились по сравнению с таковыми в первой части эксперимента (табл. 5). Исключением оказались относительно высокая скорость роста (0,19 дел.·сут⁻¹) и большое время генерации (5,1 сут) на 14–16-е сутки при +20 °С.

Культивирование при +7 °С показало, что с 2-х по 8-е сутки темпы роста оставались относительно низкими (0,05–0,08 дел.·сут⁻¹), а время генерации — высоким (8,7–15,5 сут). Только на 8–10-е сутки темпы роста начали увеличиваться (табл. 5). Темпы роста на протяжении большей части эксперимента при +7 °С были статистически значимо ниже (тест Тьюки, $p < 0,05$), чем при более высокой температуре, что определило невысокую плотность при минимальной из изученных температур (рис. 1Б).

ОБСУЖДЕНИЕ

Из полученных нами данных следует, что *P. fraudulenta* и *P. hasleana* способны оставаться в жизнеспособном состоянии в течение всего эксперимента и активно делиться в диапазонах температуры +10...+18 °С и +14...+20 °С соответственно. Средняя плотность клеток *P. fraudulenta* при +18 °С оказалась статистически значимо выше, чем при других температурах (тест Тьюки, $p < 0,05$) в течение всего опыта (рис. 1А, табл. 2). Средняя плотность клеток *P. hasleana* при +17 °С была статистически значимо выше (тест Тьюки, $p < 0,05$) таковой при других температурах на 8–12-е сутки опыта (рис. 1Б, табл. 4). При толерантной для культивирования *P. fraudulenta* и *P. hasleana* температуре в большинстве случаев значения скорости роста в конце опыта (с 10–12-х по 14–16-е сутки), несмотря на небольшие пики на 14–16-е сутки при +18 °С для *P. fraudulenta* и при +20 °С для *P. hasleana*, оказались ниже, а время генерации — выше, чем в предыдущей части опыта (табл. 3, 5), что указывало на замедление роста клеток к концу эксперимента. Можно предположить, что на 14–16-е сутки, вследствие выделения питательных веществ в результате разложения отмирающих клеток и воздействия бактериальных экзосомитов, способствующих росту микроводорослей, отмечены небольшие вторичные пики плотности и скорости роста. Вследствие низких темпов роста и большего времени генерации средняя плотность клеток *P. fraudulenta* и *P. hasleana* при культивировании при +5 и +7 °С соответственно значительно уступала таковой при более высокой температуре (тест Тьюки, $p < 0,05$) (рис. 1А и Б).

Таким образом, диапазон толерантной температуры при культивировании *P. fraudulenta* и *P. hasleana* составлял от +10 до +18 °С и от +14 до +20 °С соответственно. Оптимальные значения для развития в культуре видов *P. fraudulenta* и *P. hasleana* — +18 и +17 °С соответственно. Поскольку изученные нами клоны были изолированы из природной среды при относительно низкой температуре воды (около +5...+7 °С), то, по-видимому, *P. fraudulenta* и *P. hasleana* адаптированы к выживанию в широком диапазоне температуры, что согласуется с имеющимися в научной литературе сведениями о массовом распространении этих видов в планктоне высоких, низких и умеренных широт [Bates et al., 2018].

Литературные данные подтверждают наши выводы о развитии проанализированных видов в широком диапазоне температуры культивирования. Согласно проведённым ранее исследованиям, для изолятов *P. fraudulenta* из разных районов Мирового океана оптимальный диапазон температуры воды для роста составлял +10...+15 °С [Ayache et al., 2021; Fehling et al., 2006; Gai et al., 2018; Thessen et al., 2009] и +18,5...+26,5 °С [Delegrange et al., 2018]. Другие авторы для клона

P. fraudulenta из прибрежных вод Франции указывали значения $(+20,8 \pm 0,8)$ °C [Claquin et al., 2008]. В Северной Атлантике вегетация *P. fraudulenta* начиналась при температуре воды $+9...+14,4$ °C [Hasle, 1965], что не слишком сильно отличалось от наших данных о цветении вида в заливе Петра Великого Японского моря в диапазоне температуры $+6...+16$ °C [Stonik et al., 2008]. Что касается *P. hasleana*, то, по литературным данным, температура воды, благоприятная для его развития у берегов Австралии, составляла более $+16$ °C [Ajani et al., 2013]. Цветения воды, вызванные *Pseudo-nitzschia calliantha* Lundholm, Moestrup & Hasle, 2003 и *P. hasleana* в заливе Петра Великого, были зарегистрированы нами ранее при температуре воды $+10...+16$ °C [Stonik, Zinov, 2023]. Таким образом, выявленные нами нижние границы температурных условий для культивирования двух видов ($+10$ и $+14$ °C) согласуются с параметрами температуры воды в природной среде (залив Петра Великого Японского моря), при которых отмечены цветения *P. fraudulenta* ($+6...+16$ °C) и *P. hasleana* ($+10...+16$ °C).

Наличие больших адаптивных возможностей видов *Pseudo-nitzschia* по отношению к температуре в сочетании с высокой генетической изменчивостью в природных популяциях этого рода [Evans et al., 2005] позволяет предположить, что *P. fraudulenta* и *P. hasleana* могут получить преимущества для роста в относительно широком диапазоне температуры воды — от $+10$ до $+18$ °C и от $+14$ до $+20$ °C соответственно — в российских водах Японского моря. Полученные данные могут быть использованы для прогнозирования случаев цветений этих диатомей в районе исследования.

Заключение. При выращивании клонов *Pseudo-nitzschia fraudulenta* при температуре $+10$, $+16$ и $+18$ °C и клонов *Pseudo-nitzschia hasleana* при $+14$, $+17$ и $+20$ °C клетки оставались в жизнеспособном состоянии и продолжали делиться. При понижении температуры культивирования *P. fraudulenta* и *P. hasleana* до $+5$ и $+7$ °C соответственно деление резко замедлялось.

Диапазон толерантной температуры при выращивании *P. fraudulenta* и *P. hasleana* составлял от $+10$ до $+18$ °C и от $+14$ до $+20$ °C соответственно. Выявленные нижние границы температурных условий для культивирования двух видов ($+10$ и $+14$ °C) согласуются с параметрами температуры воды в природной среде (залив Петра Великого Японского моря), при которых наблюдали цветения *P. fraudulenta* ($+6...+16$ °C) и *P. hasleana* ($+10...+16$ °C).

Работа выполнена в рамках государственного задания НИЦМБ ДВО РАН «Динамика морских экосистем, адаптации морских организмов и сообществ к изменениям среды обитания» (№ гос. регистрации 121082600038-3).

Благодарность. Авторы выражают глубокую благодарность Н. А. Айздайчер (НИЦМБ ДВО РАН) за консультации при выполнении работы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Заика В. Е. Удельная продукция водных беспозвоночных. Киев : Наукова думка, 1972. 147 с. [Zaika V. E. *Specific Production of Aquatic Invertebrates*. Kyiv : Naukova dumka, 1972, 147 p. (in Russ.)]. <https://repository.marine-research.ru/handle/299011/1127>
2. Ключкова В. С., Лелеков А. С. Исследование влияния температуры на удельную скорость роста культуры *Arthrospira platensis* // Труды Карадагской научной станции имени Т. И. Вяземского – природного заповедника РАН. 2022. № 1 (21). С. 40–50. [Klochkova V. S.,
3. Lelekov A. S. Study of the temperature effect on the specific growth rate of *Arthrospira platensis* culture. *Trudy Karadagskoi nauchnoi stantsii imeni T. I. Vyazemskogo – prirodnogo zapovednika RAN*, 2022, no. 1 (21), pp. 40–50. (in Russ.)]. <https://doi.org/10.21072/eco.2022.21.05>
3. Кузьмин Д. В. Разработка платформы по получению биологически активных соединений из фотосинтезирующих микроорганизмов : автореф. дис. ... д-ра биол. наук : 1.5.6 / Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии.

- Долгопрудный, 2025. 47 с. [Kuzmin D. V. *Razrabotka platformy po polucheniyu biologicheskii aktivnykh soedinenii iz fotosinteziruyushchikh mikroorganizmov* : avtoref. dis. ... d-ra biol. nauk : 1.5.6 / Vserossiiskii nauchno-issledovatel'skii institut sel'skokhozyaistvennoi biotekhnologii. Dolgoprudny, 2025, 47 p. (in Russ.)]
4. *Морской биобанк. Ресурсная коллекция. Центр коллективного пользования / Национальный научный центр морской биологии Дальневосточного отделения Российской академии наук* : [сайт]. Владивосток, 2024. [Marine Biobank. Resource Collection. Core Shared Research Facility / National Scientific Center of Marine Biology, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences : [site]. Vladivostok, 2024. (in Russ.)]. URL: <https://marbank.dvo.ru/index.php/ru/> [accessed: 25.11.2024].
 5. Рябушко Л. И., Бесиктепе С., Едигер Д., Илмаз Д., Зенгинер А., Рябушко В. И., Ли Р. И. Токсичная диатомовая водоросль *Pseudo-nitzschia calliantha* Lundholm, Moestrup et Hasle из Чёрного моря: морфология, таксономия, экология // *Морской экологический журнал*. 2008. Т. 7, № 3. С. 51–60. [Ryabushko L. I., Besiktepe S., Ediger D., Yilmaz D., Zenginer A., Ryabushko V. I., Lee R. I. Toxic diatom of *Pseudo-nitzschia calliantha* Lundholm, Moestrup et Hasle from the Black Sea: Morphology, taxonomy, ecology. *Morskoj ekologicheskij zhurnal*, 2008, vol. 7, no. 3, pp. 51–60. (in Russ.)]. <https://repository.marine-research.ru/handle/299011/973>
 6. Стоник И. В., Орлова Т. Ю. Продуценты домоевой кислоты рода *Pseudo-nitzschia* H. Peragallo, 1900 (Bacillariophyta) из северной части Тихого океана // *Биология моря*. 2018. Т. 44, № 5. С. 299–306. [Stonik I. V., Orlova T. Y. Domoic acid-producing diatoms of the genus *Pseudo-nitzschia* H. Peragallo, 1900 (Bacillariophyta) from the North Pacific. *Biologiya morya*, 2018, vol. 44, no. 5, pp. 299–306. (in Russ.)]. <https://doi.org/10.1134/S0134347518050017>
 7. Фёдоров В. Д. *О методах изучения фитопланктона и его активности* : [учебное пособие]. Москва : Изд-во Моск. ун-та, 1979. 167 с. [Fedorov V. D. *O metodakh izucheniya fitoplanktona i ego aktivnosti* : [uchebnoe posobie]. Moscow : Izd-vo Mosk. un-ta, 1979, 167 p. (in Russ.)]
 8. Ajani P., Murray S., Hallegraef G., Brett S., Armand L. First reports of *Pseudo-nitzschia micropora* and *P. hasleana* (Bacillariaceae) from the Southern Hemisphere: Morphological, molecular and toxicological characterization. *Phycological Research*, 2013, vol. 61, iss. 3, pp. 237–248. <https://doi.org/10.1111/pre.12020>
 9. Ayache N., Lundholm N., Gai F., Hervé F., Amzil Z., Caruana A. Impacts of ocean acidification on growth and toxin content of the marine diatoms *Pseudo-nitzschia australis* and *P. fraudulenta*. *Marine Environmental Research*, 2021, vol. 169, art. no. 105380 (9 p.). <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2021.105380>
 10. Bates S., Hubbard A., Lundholm N., Montresor M. *Pseudo-nitzschia*, *Nitzschia*, and domoic acid: New research since 2011. *Harmful Algae*, 2018, vol. 79, pp. 3–43. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2018.06.001>
 11. Claquin P., Probert I., Lefebvre S., Véron B. Effects of temperature on photosynthetic parameters and TEP production in eight species of marine microalgae. *Aquatic Microbial Ecology*, 2008, vol. 51, no. 1, pp. 1–11. <https://doi.org/10.3354/ame01187>
 12. Davison I. R., Greene R. M., Podolak E. J. Temperature acclimation of respiration and photosynthesis in the brown alga *Laminaria saccharina*. *Marine Biology*, 1991, vol. 110, iss. 3, pp. 449–454. <https://doi.org/10.1007/bf01344363>
 13. Delegrange A., Lefebvre A., Gohin F., Courcot L., Vincent D. *Pseudo-nitzschia* sp. diversity and seasonality in the southern North Sea, domoic acid levels and associated phytoplankton communities. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 2018, vol. 214, pp. 194–206. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2018.09.030>
 14. Evans K. M., Kuhn S. F., Hayes P. K. High levels of genetic diversity and low levels of genetic differentiation in North Sea *Pseudo-nitzschia pungens* (Bacillariophyceae) populations. *Journal of Phycology*, 2005, vol. 41, iss. 3, pp. 506–514. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2005.00084.x>
 15. Fehling J., Davidson K., Bolch C., Tett P. Seasonality of *Pseudo-nitzschia* spp. (Bacillariophyceae) in western Scottish waters. *Marine Ecology Progress Series*, 2006, vol. 323, pp. 91–105. <https://doi.org/10.3354/meps323091>
 16. Fu F. X., Tatters A. O., Hutchins D. A.

- Global change and the future of harmful algal blooms in the ocean. *Marine Ecology Progress Series*, 2012, vol. 470, pp. 207–233. <https://doi.org/10.3354/meps10047>
17. Gai F. F., Hedemand C. K., Louw D. C., Grobler K., Krock B., Moestrup Ø., Lundholm N. Morphological, molecular and toxicogenic characteristics of Namibian *Pseudo-nitzschia* species – including *Pseudo-nitzschia bucculenta* sp. nov. *Harmful Algae*, 2018, vol. 76, pp. 80–95. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2018.05.003>
 18. Guillard R. R. L., Ryther J. H. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt, and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Canadian Journal of Microbiology*, 1962, vol. 8, no. 2, pp. 229–239. <https://doi.org/10.1139/m62-029>
 19. Hasle G. R. *Nitzschia* and *Fragilariopsis* species studied in the light and electron microscopes. II. The group *Pseudo-nitzschia*. *Skrifter utgitt av det Norske Videnskaps-Akademi i Oslo. Matematisk-Naturvitenskapelig Klasse Ny Serie*, 1965, vol. 18, pp. 1–45.
 20. Jones R. F., Speen H. L., Kury W. Studies on the growth of the red alga *Porphyridium cruentum*. *Physiologia Plantarum*, 1963, vol. 16, iss. 3, pp. 636–643. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1963.tb08342.x>
 21. Liu C., Ji Y., Zhang L., Qiu J., Wang Z., Liu L., Zhuang Y., Chen T., Li Y., Niu B., Li A. Spatial distribution and source of biotoxins in phytoplankton from the South China Sea, China. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, vol. 418, art. no. 126285 (10 p.). <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126285>
 22. Orlova T. Yu., Stonik I. V., Aizdaicher N. A., Bates S. S., Léger C., Fehling J. Toxicity, morphology and distribution of *Pseudonitzschia calliantha*, *P. multistriata* and *P. multiseriata* (Bacillariophyta) from the northwestern Sea of Japan. *Botanica Marina*, 2008, vol. 51, no. 4, pp. 297–306. <https://doi.org/10.1515/bot.2008.035>
 23. Raven J. A., Geider R. J. Temperature and algal growth. *New Phytologist*, 1988, vol. 110, no. 4, pp. 441–461. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1988.tb00282.x>
 24. StatSoft : [site]. Moscow, 2025. URL: <https://statsoftai.ru/> [accessed: 25.01.2025].
 25. Stonik I. V. Long-term variations in species composition of bloom-forming toxic *Pseudo-nitzschia* diatoms in the north-western Sea of Japan during 1992–2015. *Journal of Marine Science and Engineering*, 2021, vol. 9, iss. 6, art. no. 568 (13 p.). <https://doi.org/10.3390/jmse9060568>
 26. Stonik I. V., Orlova T. Y., Chikalovets I. V., Aizdaicher N. A., Aleksanin A. I., Kachur V. A., Morozova T. V. *Pseudo-nitzschia* species (Bacillariophyceae) and the domoic acid concentration in *Pseudo-nitzschia* cultures and bivalves from the northwestern Sea of Japan, Russia. *Nova Hedwigia*, 2019, Bd 108, Heft 1–2, S. 73–93. https://doi.org/10.1127/nova_hedwigia/2018/0502
 27. Stonik I. V., Orlova T. Yu., Begun A. A. Potentially toxic diatoms *Pseudo-nitzschia fraudulentula* and *P. calliantha* from Russian waters of East/Japan Sea and Sea of Okhotsk. *Ocean Science Journal*, 2008, vol. 43, iss. 1, pp. 25–30. <https://doi.org/10.1007/BF03022428>
 28. Stonik I. V., Orlova T. Yu., Lundholm N. Diversity of *Pseudo-nitzschia* H. Peragallo from the western North Pacific. *Diatom Research*, 2011, vol. 26, iss. 1, pp. 121–134. <https://doi.org/10.1080/0269249x.2011.573706>
 29. Stonik I. V., Zinov A. A. Changes in the composition of bloom-forming toxic *Pseudo-nitzschia* diatoms in surface waters in Ussuri Bay, northwestern Sea of Japan, during the autumn seasons of 2017–2022. *Journal of Marine Science and Engineering*, 2023, vol. 11, iss. 5, art. no. 1024 (14 p.). <https://doi.org/10.3390/jmse11051024>
 30. Thessen A. E., Bowers H. A., Stoecker D. K. Intra- and interspecies differences in growth and toxicity of *Pseudo-nitzschia* while using different nitrogen sources. *Harmful Algae*, 2009, vol. 8, iss. 5, pp. 792–810. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2009.01.003>
 31. Zhou C.-Y., Pan C.-G., Peng F.-J., Zhu R.-J., Hu J.-J., Yu K. Simultaneous determination of trace marine lipophilic and hydrophilic phycotoxins in various environmental and biota matrices. *Marine Pollution Bulletin*, 2024, vol. 203, art. no. 116444 (8 p.). <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2024.116444>

**THE EFFECT OF TEMPERATURE ON THE GROWTH
OF TWO SPECIES OF *PSEUDO-NITZSCHIA* H. PERAGALLO (BACILLARIOPHYTA)
IN LABORATORY CULTURES ISOLATED FROM THE SEA OF JAPAN**

A. Zinov and I. Stonik

A. V. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology, FEB RAS, Vladivostok, Russian Federation
E-mail: innast2004@mail.ru

Diatoms of the genus *Pseudo-nitzschia* H. Peragallo, 1900, known as producers of the neurotoxic domoic acid, regularly cause algal blooms in the Russian Far Eastern seas. Temperature is an important factor affecting diatom blooms; however, its effect on the growth of this group of microalgae from the Sea of Japan has not been sufficiently studied. In this regard, growth characteristics of two diatom species were investigated in laboratory culture within the temperature range of +5 to +20 °C. The test involved direct counting in a Nageotte chamber. Cell density, growth rates, and generation time were evaluated. As found, the maximum average density of *P. fraudulenta* reached 2.2×10^5 cells·L⁻¹ on the 16th day of the experiment at +18 °C. For this species, at +18 °C, the growth rate (0.11–0.16 div·day⁻¹) remained relatively high, and the generation time (4.4–6.7 days) was relatively low for most of the test. The maximum mean density of *P. hasleana*, 5×10^5 cells·L⁻¹, was recorded on the 16th day of the experiment at +17 °C. For this species, high growth rate (0.2–0.92 div·day⁻¹) and low generation time (0.8–3.6 days) were recorded at +17 °C from the 2nd to the 10th day of the test. The average densities of *P. fraudulenta* and *P. hasleana* were statistically significantly higher at +17 °C and +18 °C, respectively, than at the other temperatures studied (Tukey's test, $p < 0.05$). As recorded, when *P. fraudulenta* clones were grown at +10, +16, and +18 °C, and when *P. hasleana* clones were cultured at +14, +17, and +20 °C, their cells remained viable and continued to divide. When the cultivation temperature for *P. fraudulenta* and *P. hasleana* was lowered to +5 and +7 °C, respectively, division slowed down dramatically, and cell density was statistically significantly lower than at higher temperatures (Tukey's test, $p < 0.05$). Ranges of tolerant temperature during *P. fraudulenta* and *P. hasleana* cultivation were found to be within +10...+18 °C and +14...+17 °C, respectively. The revealed lower temperature tolerance limits for the two species during cultivation (+10 and +14 °C) corresponded to water temperatures under which *P. fraudulenta* and *P. hasleana* blooms were observed in the natural environment (+6...+16 and +10...+16 °C, respectively). The study demonstrated the broad adaptive potential of the investigated species to temperature changes.

Keywords: *Pseudo-nitzschia fraudulenta*, *Pseudo-nitzschia hasleana*, laboratory cultivation, temperature, Sea of Japan