

УДК 582.26

ЭКОФИЗИОЛОГИЯ ЭКСТРЕМОФИЛЬНОЙ ДИАТОМОВОЙ ВОДОРΟΣЛИ *Nitzschia cf. thermaloides* ИЗ ГРЯЗЕВЫХ ВУЛКАНОВ КРЫМА

© 2024 г. О. И. Давидович^а, Н. А. Давидович^{а, *}, Ю. А. Подунай^а, Н. А. Мартыненко^б

^аКарадагская научная станция им. Т.И. Вяземского — природный заповедник Российской академии наук, филиал Института биологии южных морей им. А.О. Ковалевского Российской академии наук, г. Феодосия, пос. Курортное, Россия

^бИнститут проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук, Москва, Россия

*e-mail: nickolaid@yandex.ru

Поступила в редакцию 25.09.2023 г.

После доработки 06.10.2023 г.

Принята к публикации 11.10.2023 г.

В лужах и озерах, которые формируются в местах функционирования грязевых вулканов в районе Булганакского сопочного поля (восточный Крым), можно обнаружить в массовом количестве диатомовую водоросль *Nitzschia cf. thermaloides*. Условия среды в таких водоемах экстремальны, прежде всего, это относится к солености (от 18 до $\geq 70\text{‰}$), а также крайне высоким уровням инсоляции и жесткого ультрафиолетового излучения. В лабораторных условиях изучены темпы деления и интенсивность полового воспроизведения *N. cf. thermaloides* при разных уровнях солености и освещенности. Определены пределы галотолерантности и оптимумы солености и освещенности для роста и полового воспроизведения водоросли, которая могла размножаться вегетативно в среде с соленостью от 0 до 220‰. Процесс полового воспроизведения происходил в более узком диапазоне от 6 до 54‰. Оптимальной как для вегетативного размножения, так и для полового воспроизведения *N. cf. thermaloides* была соленость 22–25‰, освещенность — порядка 1.5 клк.

Ключевые слова: диатомовые водоросли, грязевые вулканы, вегетативное размножение, половое воспроизведение, галотолерантность, освещенность, экстремофилы

DOI: 10.31857/S0320965224050109, **EDN:** XQZBDS

ВВЕДЕНИЕ

Условия существования микроводорослей из луж и озер, которые формируются в местах функционирования грязевых вулканов, можно отнести к экстремальным: высокая инсоляция, включая жесткий ультрафиолет, высокая температура в летний период и низкая зимой, повышенная соленость, доходящая до уровня гиперсоленых водоемов. В этих условиях отдельные виды диатомовых, в частности, *Nitzschia cf. thermaloides* Hustedt 1955, развиваются массово (Ryabushko, Bondarenko, 2020). Более того, удалось установить, что популяции этого вида стабильны, существуют на протяжении длительного времени, проходя все фазы жизненного цикла, способны возобновляться в поколениях (Davidovich et al., 2023).

Цель настоящей работы — оценить пределы галотолерантности и выявить оптимумы солености и освещенности для роста и воспроизведения экстремофильной диатомеи *Nitzschia cf. thermaloides*.

Указанные эколого-физиологические характеристики первостепенны для понимания пределов экологической пластичности изучаемых видов диатомовых, их эффективного культивирования, выбора объектов, отличающихся высокими адаптационными возможностями, поиска продуцентов нетривиальных метаболитов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Из проб, отобранных 15 октября 2020 г. в р-не Булганакского сопочного поля (грязевые вулканы Андрусова, Павлова и Центральное озеро), были выделены и введены в лабораторную культуру клоны диатомовой водоросли, идентифицированной нами как *Nitzschia cf. thermaloides* Hustedt 1955 (рис. 1).

Клоны выделяли микропипеточным способом и содержали в модифицированной среде ESAW в стеклянных колбах объемом 100 мл (Andersen et al., 2005; Полякова и др., 2018). Соленость, соответствующую той, при которой клетки были об-

Сокращения: дел — делений, клк — килолюкс (освещенность).

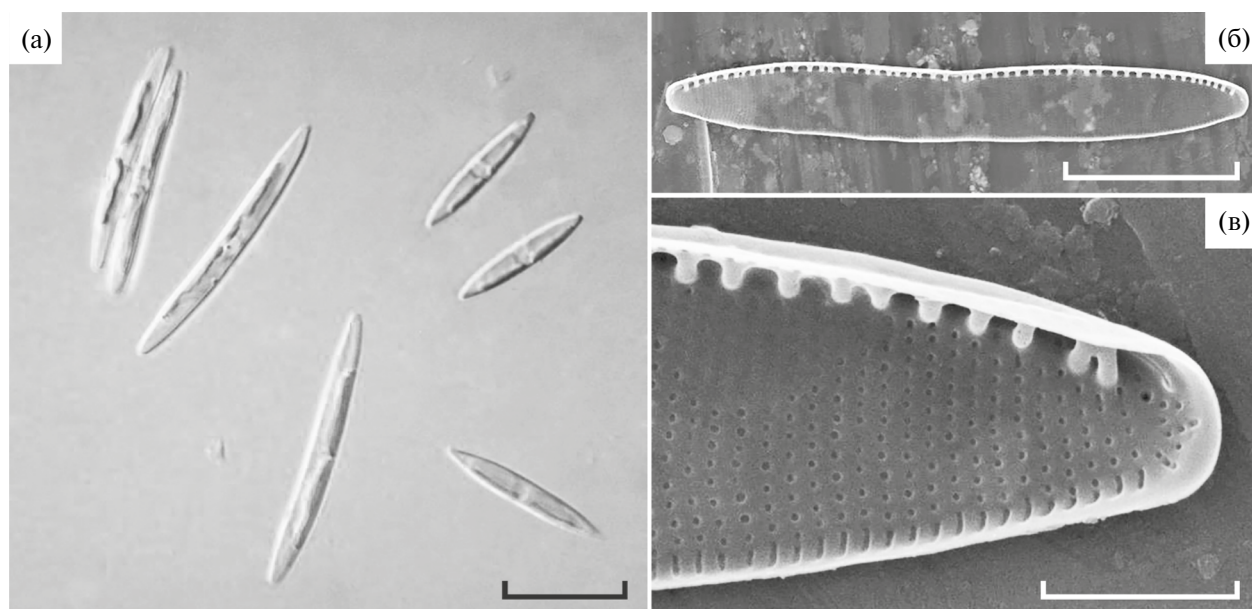


Рис. 1. Диатомовая водоросль *Nitzschia* cf. *thermaloides* Hustedt: а – родительские и первые постинициальные клетки новой генерации, световая микроскопия, дифференциально-интерференционный контраст; б, в – створка и фрагмент створки с внутренней стороны, СЭМ. Масштаб: а – 20 мкм, б – 10 мкм, в – 2 мкм.

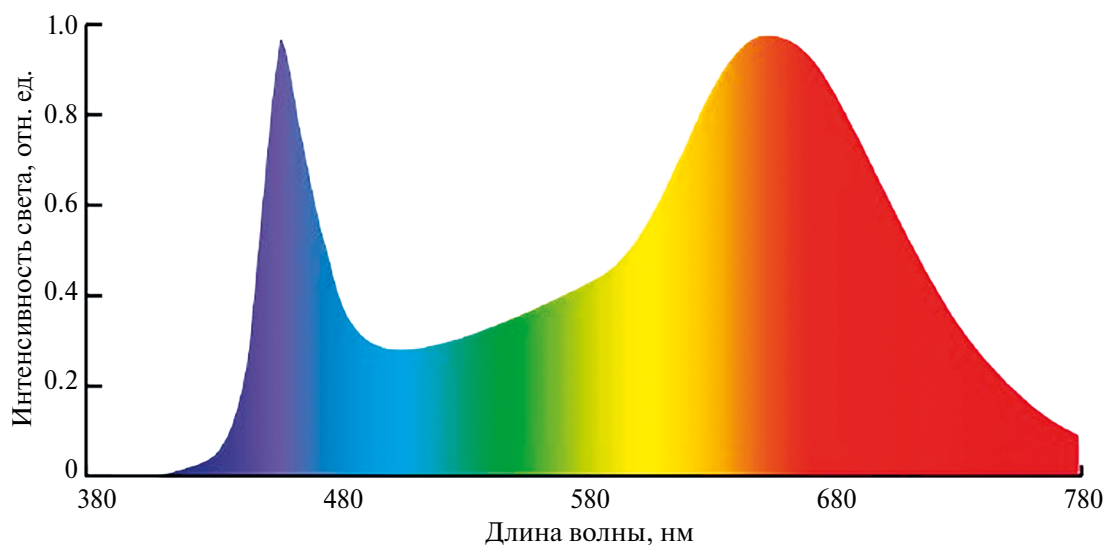


Рис. 2. Спектр излучения светильников ЭРА LLED-05-T5-FITO-14W-W (Китай), <http://era74.ru/catalog/goods/svetilnik-era-lled-05-t5-fito-14w-w/#prettyPhoto>.

наружены в пробах, создавали путем разбавления исходной среды (36‰) дистиллированной водой или добавляя к ней хлорид натрия. Соленость измеряли рефрактометром RHS-10ATC (Китай). В экспериментах с освещенностью использовали светильник светодиодный для растений ЭРА LLED-05-T5-FITO-14W-W (Китай), в спектре излучения которого доминируют синий и оранжево-красный цвета (рис. 2). Освещенность измеряли люксметром Ю-117 (Россия). Уровень освещенности создавали за счет удаления от источника света.

В качестве посевного материала использовали культуры в экспоненциальной фазе роста. До экспериментов культуры содержали в боксе при температуре $20 \pm 2^\circ\text{C}$ и естественном освещении со стороны северного окна. Эксперименты по влиянию солености среды проводили при той же температуре и при пасмурной погоде в конце января–начале февраля. В опытах по влиянию солености среды на вегетативный рост участвовали три клон. Средняя длина вегетативных клеток на начало экспериментов в клонах 0.1020-ОА, 0.1020-ОЕ и 0.1020-ОГ была 26.5, 20.0 и 44.0 мкм

соответственно. Проведено два эксперимента. В первом эксперименте осуществляли резкий переход из солености 20‰, при которой культуры содержали до эксперимента, в среду с соленостью 0, 10, 18, 30, 48, 68, 96 и 110‰; во втором — клоны в течение 10 сут адаптировали к соленостям 0, 10, 18, 30, 48 и 68‰, затем засеивали в чашки Петри в соответствующие солености и дополнительно из сред с соленостью 68 в 96 и 110‰. После второго эксперимента чашки Петри с клоновыми культурами с соленостью среды 110‰ наблюдали еще на протяжении 45 сут, при этом из-за испарения воды соленость в чашках плавно повышалась.

В эксперименте по изучению влияния солености на половое воспроизведение *N. cf. thermaloides* использовали две активные в репродуктивном отношении пары клонов (0.1020-ОА + 0.1020-ОН) и (0.1216-ОА(F1) + 0.1020-ОЕ), содержащиеся при 20‰. В чашки Петри (диаметр 5 см) заливали среду состава ESAW с разной соленостью: 0, 4, 6, 8, 10, 16, 18, 20, 24, 30, 36, 48, 54, 60‰. Затем в каждую чашку добавляли небольшое количество (по 1.0 мкл) смешанного посева сексуально совместимых клонов. Результаты полового воспроизведения оценивали на 3-и и 4-е сут после скрещивания. На пятнадцати полях зрения подсчитывали количество вегетативных и генеративных клеток. К генеративным клеткам относили гаметы, зиготы, ауксоспоры и формирующиеся инициальные клетки. Относительное количество клеток, вступивших в половой процесс, определяли как отношение числа генеративных клеток к общему числу клеток.

В эксперименте по влиянию освещенности на вегетативное деление клеток участвовало три клон-на 0.1020-ОА, 0.1020-ОЕ и 0.1020-ОН со средней длиной клеток 20.0, 26.5 и 57.0 мкм соответственно. В эксперименте по влиянию освещенности на половое воспроизведение задействовали те же две пары клонов, что и в экспериментах по солености. В обоих экспериментах соленость среды была 30‰. Задавали следующую градицию освещенности: 655, 1050, 1500, 2000, 2950 и 4750 люкс. Клетки подсчитывали на 3-и и 4-е сут, когда в чашках происходил процесс ауксоспорообразования.

Действие солености на вегетативное размножение водоросли оценивали по темпу деления клеток (скорости удвоения численности). Для этого под микроскопом подсчитывали количество клеток на пятнадцати полях зрения на 3, 4 и 5-е сутки от момента посева. Затем определяли удельную скорость роста (r , сут⁻¹), исходя из уравнения экспоненциального роста численности:

$$N_t = N_0 \exp(r \Delta t), \quad (1)$$

где N_t и N_0 — средняя численность клеток в поле зрения в момент времени t и начальный момент времени t_0 , Δt — промежуток времени между t и t_0 . Значения коэффициента r вычисляли по методу

наименьших квадратов, с помощью программы Microsoft Excel. Для перехода к темпу деления (K , делений $\times$ сут⁻¹) полученные значения r делили на $\ln 2$ (Wood et al., 2005).

Значения солености, оптимальные для полового воспроизведения, определяли по положению максимума показательно-степенной функции (Зайцев, 1984), которую применили для аппроксимации данных:

$$A = a F^b \exp(c F), \quad (2)$$

где A — относительное количество клеток, вступивших в половой процесс (частота ауксоспорообразования), F — действующий фактор (соленость, ‰). Значения коэффициентов a , b и c подбирали таким образом, чтобы обеспечить минимальную дисперсию точек по отношению к аппроксимирующей кривой. Положение максимума для этого уравнения находили как

$$F_{\text{opt}} = -b/c. \quad (3)$$

Это же уравнение использовали для описания зависимости частоты ауксоспорообразования от освещенности.

Для аппроксимации зависимости темпа вегетативного деления клеток от освещенности использовали уравнение (Финенко, Ланская, 1971):

$$K = K_m (1 - \exp(-\lambda I)), \quad (4)$$

где K — темп деления (делений $\times$ сут⁻¹), K_m — максимальный темп деления (асимптотическое приближение), I — освещенность, измеренная в килолюксах (клк) при помощи люксметра Ю-117 (Россия). Значение коэффициента крутизны кривой λ вычисляли по экспериментальным данным из соотношения

$$\lambda = \Sigma \ln(1 - K/K_m) / \Sigma I, \quad (5)$$

где ΣI — сумма значений освещенности, при которых определяли темпы деления.

Оптимальную для вегетативного роста освещенность находили по так называемой величине светового насыщения (I_k) — значению абсциссы точки пересечения прямой, построенной для начального участка кривой, и горизонтальной асимптотической прямой для максимального темпа деления.

Подсчет и измерение клеток осуществляли при помощи инвертированных микроскопов Nib-100 (Китай) и Альгами ИНВЕРТ 3 (Россия—Китай) при непосредственном наблюдении, а также по фотографиям, полученным с помощью цифровой камеры Moticam 1080 (Китай).

Для сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) клетки диатомовых водорослей очищали от органического материала кипячением в 35%-ной перекиси водорода (H₂O₂) на песчаной бане в течение 3 ч (2 сут подряд), с последующим центрифугированием и промывкой клеточной

суспензии дистиллированной водой, повторяя операцию семь–восемь раз. Несколько капель полученной суспензии помещали на алюминиевые столбики, высушивали на воздухе и покрывали золотом. Электронные микрофотографии были получены на сканирующем электронном микроскопе Hitachi SU8020.

Выделение тотальной ДНК из имеющихся штаммов, амплификация региона *rbcL* хпДНК и последующее его секвенирование проводили по описанию в работе (Полякова и др., 2022). Для сборки и редактирования полученных последовательностей использовали программу MegaX (Kumar et al., 2018). Последовательности гена *rbcL* у исследованных нами штаммов депонировали в базу данных нуклеотидных последовательностей NCBI¹ под номерами OR619434, OR619435. Для филогенетического анализа в массив данных были включены 83 последовательности гена *rbcL* хпДНК различных видов рода *Nitzschia* из этой же базы. Последовательности двух представителей рода *Ardissonea* De Notaris были выбраны в качестве внешней группы. После финального редактирования и выравнивания алгоритмом ClustalW со стандартными параметрами общий массив данных содержал 87 последовательностей по 948 пн каждая. Для имеющегося набора данных была определена модель нуклеотидных замен (GTR + G + I), и на ее основе проведен филогенетический анализ методом максимального правдоподобия (ML) с использованием 1000 бутстреп-повторов. Изображение филогенетического дерева редактировали в программе Adobe Photoshop CC (19.0).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследованная нами водоросль морфологически близка к *Nitzschia thermaloides*, однако отличается от нее существенно большим количеством трансапикальных штрихов в 10 мкм: 41–46 по нашим измерениям против ~40 по (Hustedt, 1955) и 30–36 по (Witkowski et al., 2000). Плотность расположения фибул у этих видов совпадает, 14–20 по нашим данным и 16(17)–20 по указанным литературным данным. В сопоставимые диапазоны укладываются у них длина и ширина клеток. В работе (Heudre et al., 2020) приведены фотографии и описание *N. thermaloides* с количеством штрихов 35–50, фибул 15–20 в 10 мкм. Наиболее отличительная черта этого вида – наличие псевдоконопума, который в наших образцах отсутствует.

К сожалению, молекулярные данные для *N. thermaloides* в доступных базах данных не представлены. На филогенетическом дереве, построенном на основании изменчивости фрагмента гена *rbcL* хпДНК, исследованные клоны 0.1020-OE и 0.1020-OG находились в одной кладе с *Nitzschia anatoliensis* Górecka, Gastineau & Solak

и одним из изолятов *Nitzschia draveillensis* Coste & Ricard (WT7) со средними значениями бутстреп поддержек (рис. 3). Другие штаммы *N. draveillensis*

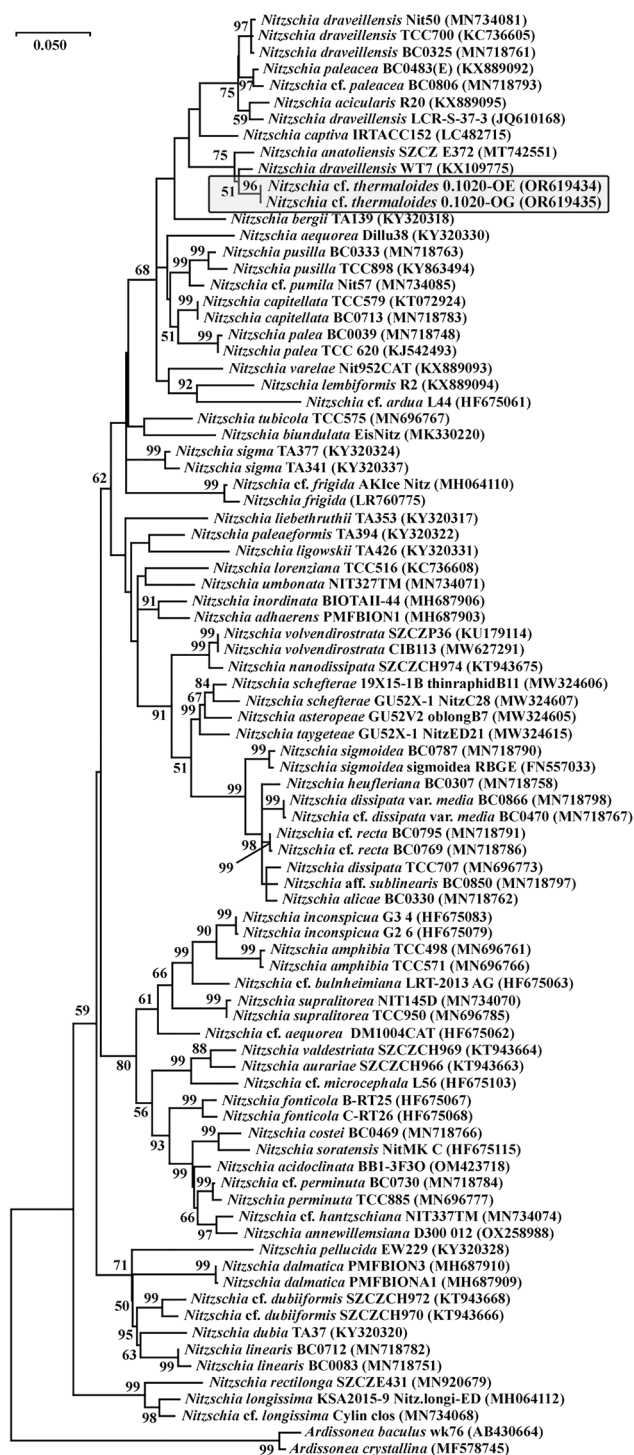


Рис. 3. Филогенетическое дерево, построенное методом максимального правдоподобия на основании сравнения 85 нуклеотидных последовательностей гена *rbcL* хлоропластной ДНК различных видов рода *Nitzschia*. Значения бутстрепа показаны возле узлов, поддержанных на >50%. В обозначениях ветвей дерева указаны видовые названия, названия штаммов и номера Генбанка (в скобках).

¹ <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide>

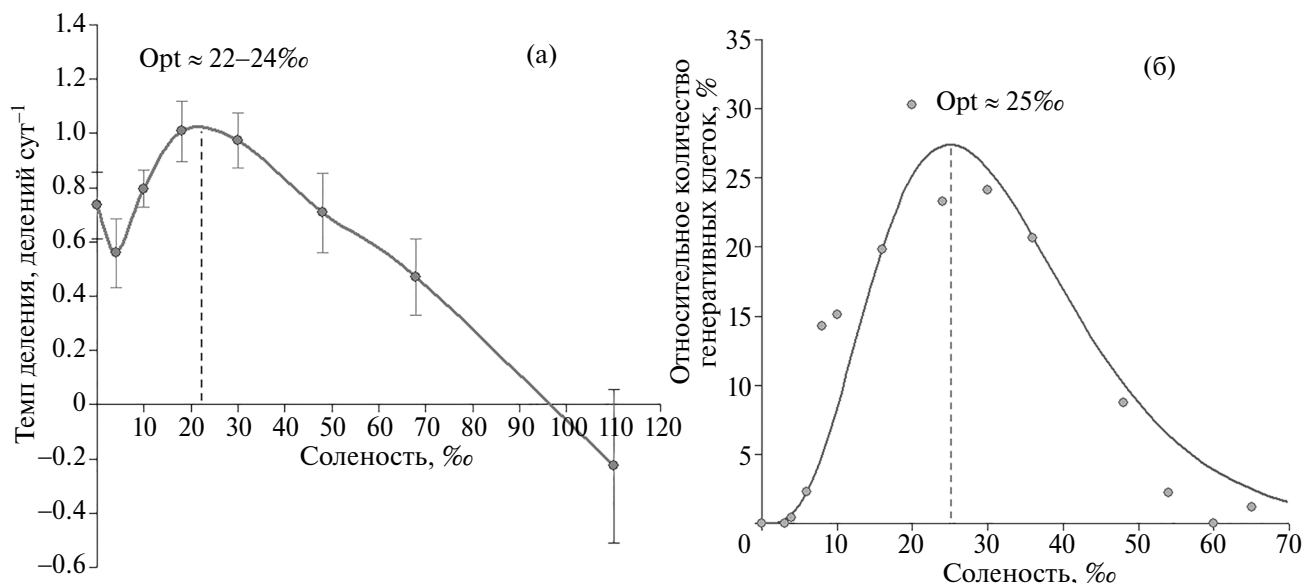


Рис. 4. Темп вегетативного деления *Nitzschia cf. thermaloides*, помещенной в среду с разной соленостью без предварительной акклимации (а) и частота ее полового воспроизведения при разной солености среды (б).

не кластеризовались с этой группой и были в других различных кладах.

Клоны диатомовой водоросли *Nitzschia cf. thermaloides* продемонстрировали широкую толерантность к изменению солености. Все три клона, участвовавшие в остром эксперименте, интенсивно делились в среде Dm, предназначенной для пресноводных видов, при этом сохраняли жизнеспособность в гиперсоленой воде (рис. 4а). В отсутствие акклимации диапазон толерантности в отношении вегетативного роста достигал ~90‰. Оптимальный уровень солености при этом был ~22–24‰.

Во втором эксперименте за клоновыми культурами в чашках Петри с соленостью среды 110‰ наблюдали на протяжении 45 сут. Через неплотно прилегающие крышки в чашках происходило испарение воды с постепенным повышением солености. При достижении 178‰ стали попадаться погибающие единичные клетки с разрушенными хлоропластами. Вегетативное деление клеток продолжалось при повышении солености вплоть до 200‰. У большинства клеток при солености 220‰ происходило разрушение хлоропластов с последующей гибелью клеток. В клоне 0.1020-ОЕ, имеющем наименьшие по сравнению с другими размеры клеток, присутствовали живые, но неделящиеся клетки, которые располагались в скоплениях на дне чашки.

Диапазон солености, благоприятный для полового воспроизведения, оказался значительно уже — 6–54‰. Оптимальная для полового воспроизведения соленость была ~25‰ (рис. 4б).

По отношению к свету *N. cf. thermaloides* продемонстрировала типичную для диатомовых зависимость темпа деления от освещенности

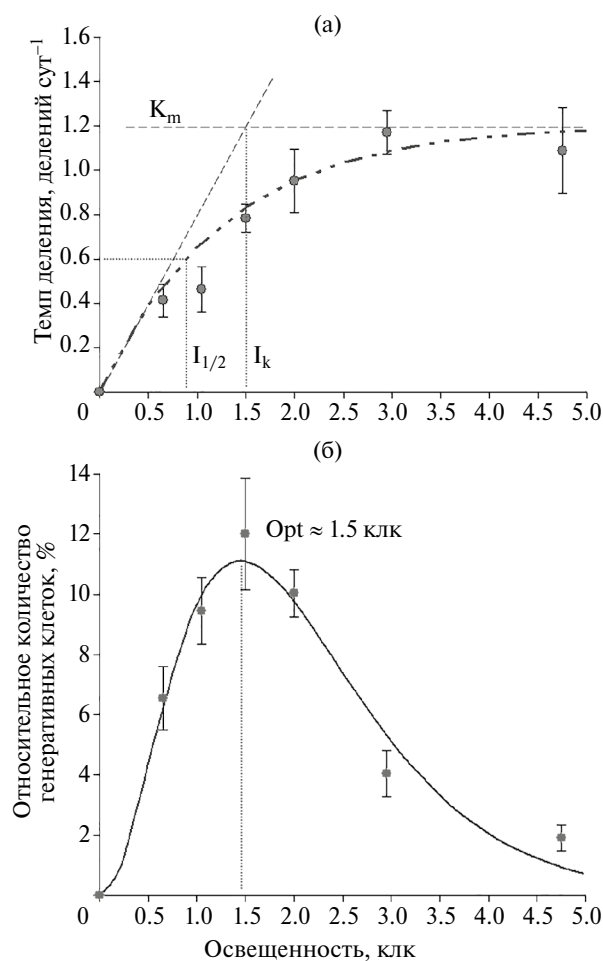


Рис. 5. Зависимость темпа деления клеток (а) и частоты полового воспроизведения (б) *Nitzschia cf. thermaloides* от освещенности. $I_{1/2}$ — константа полунасыщения, I_k — константа светового насыщения, K_m — максимальный темп деления. Даны средние значения и их ошибки.

(рис. 5а). Максимальный темп деления в экспериментах не превышал $1.2 \text{ дел} \times \text{сут}^{-1}$. Половина от максимального темпа деления достигалась при освещенности $\sim 0.8 \text{ клк}$, константа светового насыщения была $\sim 1.5 \text{ клк}$. Значение оптимума освещенности для полового воспроизведения (1.5 клк) совпадало с константой светового насыщения темпов деления (рис. 5б).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Nitzschia cf. thermaloides населяет экологическую нишу, отличающуюся экстремальными условиями обитания: высокая температура летом и низкая в зимние месяцы, высокий уровень инсоляции, включая ультрафиолетовую составляющую, изменяющаяся соленость — от 17–18‰ (возможно, и меньше после дождей) вплоть до такой, при которой наблюдается осаждение солей. Казалось бы, эколого-физиологические характеристики водоросли, обитающей в столь необычных условиях, также должны быть неординарными. Результаты экспериментов показывают, что это утверждение касается только диапазонов толерантности в отношении рассмотренных факторов.

Nitzschia cf. thermaloides имеет широкий диапазон толерантности по отношению к солености, причем, как это обычно и бывает у диатомовых, вегетативное деление клеток может осуществляться в более широком диапазоне соленостей по сравнению с половой репродукцией. Это означает, что вегетативно размножающаяся популяция может находиться в условиях более “жестких”, чем требуется для прохождения полного жизненного цикла. Оптимальной и для вегетативного размножения, и для полового воспроизведения *N. cf. thermaloides* была соленость 22–25‰, что сравнимо или немного меньше оптимумов солености, установленных для ряда черноморских видов диатомовых (Davidovich, Davidovich, 2020; Davidovich et al., 2022).

В отношении интенсивности света следует отметить, что уже при освещенности 4–5 клк ауксоспорообразование почти прекращалось. Хотя в летние месяцы на поверхности водоемов в местах отбора проб освещенность могла достигать 100 клк, выявлена вполне сбалансированная размерно-возрастная структура природной популяции (Davidovich et al., 2023), которая могла сформироваться только в случае успешной ауксоспоруляции.

Оптимумы освещенности для вегетативного роста и полового воспроизведения у *N. cf. thermaloides* совпадали и были на уровне 1.5 клк. Для сравнения, световое насыщение темпов деления у некоторых исследованных видов планктон-

ных диатомовых находилось в пределах 4–8 клк (Финенко, Ланская, 1971). Невысокая величина константы светового насыщения и относительно небольшой максимальный темп деления ($1.2 \text{ дел} \times \text{сут}^{-1}$) могут свидетельствовать о стратегии *N. cf. thermaloides* “противостоять” избыточному потоку солнечной энергии, и, судя по тому, что эта водоросль постоянно присутствует в водоемах грязевых вулканов, у нее выработаны необходимые для этого физиолого-биохимические механизмы, не выясненные на данном этапе исследований.

Отметим, что обстоятельные эколого-физиологические характеристики диатомовых, с которыми выявлено наибольшее генетическое сходство изучаемого нами вида, отсутствуют. Однако известно, что *N. anatoliensis* населяет экстремальный биотоп — сильнощелочное оз. Ван в Восточной Турции (Solak et al., 2021). Вид *N. anatoliensis* считается криптическим, очень похожим по морфологии на *N. aurariae* Cholnoky, но различие этих видов становится очевидным, если принять во внимание молекулярные филогенетические отношения.

Говоря о распространении *N. cf. thermaloides*, следует отметить, что нами обнаружена морфологически сходная с нею диатомея в пробах, взятых из грязевого вулкана Плевака на Таманском п-ове, однако для подтверждения конспецифичности крымской и таманской популяций требуются дополнительные исследования. Вместе с тем, диатомеи, похожие на *N. thermaloides*, представлены не во всех водоемах, образованных грязевыми вулканами, например, в сообществе диатомовых Дагинского грязевого вулкана на о. Сахалин *N. thermaloides* не обнаружена (Цой, Емельянова, 2021). По мнению некоторых авторов (Nikulina, Kociolk, 2011), *N. thermaloides* — истинный термофил, типична для горячих источников, где может встречаться в массовом количестве.

Выявлено высокое сходство (по результатам blastn анализа данных Генбанка) последовательностей *rbcL*, полученных для исследованных нами клонов *N. cf. thermaloides* и эндосимбионта динофлагелляты *Kryptoperidinium triquetrum* (Ehrenberg) Tillmann, Gottschling, Elbrächter, Kusber & Hoppenrath (= *Kryptoperidinium foliaceum*), представленной в Генбанке двумя синонимами *Glenodinium foliaceum* F. Stein (97.18% тождественности) и *Peridinium foliaceum* Biecheler (96.87% тождественности). Представители монофилетической группы динофлагеллят, известных как динотомы или динотомеи, относящиеся к семейству Kryptoperidiniaceae, поглощают клетки диатомовых водорослей и используют их пластиды для автотрофного питания — третичный эндосимбиоз

(Figueroa et al., 2009; Imanian et al., 2012; Yamada et al., 2019). Некоторых динотом относят к космополитам (Solak et al., 2021).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диатомовая водоросль *Nitzschia cf. thermaloides*, обитающая в экстремальных условиях водоемов грязевых вулканов Крыма, имеет довольно широкие диапазоны толерантности к факторам среды, особенно это проявляется в отношении солености. В экспериментах клетки одинаково активно делились и в пресной среде, и в среде соленостью $\geq 70\text{‰}$. Однако установленные оптимумы солености при этом неаномальны и соответствуют таковым, известным для ряда черноморских видов диатомовых. На фоне способности жить в условиях мощной и продолжительной (в летние месяцы) инсоляции оптимумы освещенности как для вегетативного деления, так и для полового воспроизведения, оказались сравнительно невысокими.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках госзадания № 124030100100-0 Карадагской научной станции им. Т.И. Вяземского – природного заповедника РАН, филиала Института биологии Южных морей им. А.О. Ковалевского РАН “Изучение фундаментальных характеристик морских гидробионтов, обеспечивающих их функционирование в экосистемах и служащих основой их рационального использования и сохранения. В работе использованы материалы Научно-образовательного центра коллективного пользования Института биологии южных морей “Коллекция диатомовых водорослей Мирового океана”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Зайцев Г.Н. 1984. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. М.: Наука.
- Полякова С.Л., Давидович О.И., Подунай Ю.А., Давидович Н.А. 2018. Модификация среды ESAW, используемой для культивирования морских диатомовых водорослей // Морской биол. журн. Т. 3. № 2. С. 73. удалено для уменьшения самоцитирования
- Полякова С.Л., Давидович Н.А., Стоник И.В. и др. 2022. Репродуктивная совместимость и токсикогенная активность диатомовой водоросли *Pseudonitzschia calliantha* Lundholm, Moestrup & Hasle из трех географически удаленных популяций // Физиология растений. Т. 69. № 5. С. 480. <https://doi.org/10.31857/S0015330322050177>
- Финенко З.З., Ланская Л.А. 1971. Рост и скорость деления водорослей в лимитированных объемах воды // Экологическая физиология морских планктонных водорослей (в условиях культур). Киев: Наук. думка. С. 22.
- Цой И.Б., Емельянова Э.А. 2021. Атлас диатомовых водорослей Дагинского грязевого вулкана (Восточный Сахалин). Владивосток: ТОИ ДВО РАН.
- Andersen, R.A., Berges, J.A., Harrison, P.J., Watanabe, M.M. 2005. Recipes for freshwater and seawater media // Algal Culturing Techniques. N.Y.: Elsevier Acad. Press.
- Andersen, R.A., Kawachi, M. 2005. Traditional microalgae isolation techniques // Algal Culturing Techniques. N.Y.: Elsevier Acad. Press.
- Davidovich N.A., Davidovich O.I., Podunay Yu.A. 2023. Reproductive biology and the life cycle of the diatom *Nitzschia cf. thermaloides* inhabiting mud volcanoes of Crimea // Mar. Biol. J. V. 8(2). P. 42. <https://doi.org/10.21072/mbj.2023.08.2.03>
- Davidovich O.I., Davidovich N.A., Podunay Yu.A., Solak C.N. 2022. Halotolerance limits of the Black Sea representative of the genus *Entomoneis* Ehrenberg, 1845 (Bacillariophyta) // Mar. Biol. J. V. 7(2). P. 32. <https://doi.org/10.21072/mbj.2022.07.2.03>
- Figueroa R.I., Bravo I., Fraga S. et al. 2009. The life history and cell cycle of *Kryptoperidinium foliaceum*, a dinoflagellate with two eukaryotic nuclei // Protist. V. 160(2). P. 285. <https://doi.org/10.1016/j.protis.2008.12.003>
- Heudre D., Wetzel C.E., Van de Vijver B. et al. 2020. Brackish diatom species (Bacillariophyceae) from rivers of Rhin-Meuse basin in France // Botany Letters. V. 168(1). P. 56. <https://doi.org/10.1080/23818107.2020.1738269>
- Hustedt F. 1955. Marine littoral diatoms of Beaufort, North Carolina. Duke University Marine Station, Bulletin. № 6.
- Imanian B., Pombert J.-F., Dorrell R. et al. 2012. Tertiary endosymbiosis in two dinotoms has generated little change in the mitochondrial genomes of their dinoflagellate hosts and diatom endosymbionts // PLOS ONE. V. 7(8). e43763. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0043763>
- Kumar S., Stecher G., Li M. et al., al. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms // Mol. Biol. Evol. 2018. V. 35. P. 1547. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Nikulina T.V., Kociolek J.P. 2011. Diatoms from hot springs from Kuril and Sakhalin islands (Far East, Russia) // The Diatom World, Cellular Origin, Life in Extreme Habitats and Astrobiology. Springer Science + Business Media B. V. 19. P. 333.
- Ryabushko L.I., Bondarenko A.V. 2020. Microalgae of mud volcano of the Bulganak sopochnoe field on the Crimean Peninsula // Mar. Biol. J. V. 5(1). P. 64. <https://doi.org/10.21072/mbj.2020.05.1.07>
- Solak C.N., Gastineau R., Lemieux C. et al. 2021. *Nitzschia anatoliensis* sp. nov., a cryptic diatom species from the highly alkaline Van Lake (Turkey). PeerJ 9: e12220. <https://doi.org/10.7717/peerj.12220>

- Witkowski A., Lange-Bertalot H., Metzeltin D. 2000. Diatom flora of marine coasts. I A.R.G. Ganter Verlag K.G.
- Wood A.M., Everroad R.C., Wingard L.M. 2005. Measuring growth rates in microalgal cultures // Algal culturing techniques. N.Y.: Elsevier Acad. Press.
- Yamada N., Bolton J., Trobajo R. et al. 2019. Discovery of a kleptoplastic 'dinotom' dinoflagellate and the unique nuclear dynamics of converting kleptoplastids to permanent plastids // Scientific Reports. V. 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-46852-y>

Ecophysiology of Extremophilic Diatom Alga *Nitzschia* cf. *thermaloides* from Mud Volcanoes of Crimea

O. I. Davidovich¹, N. A. Davidovich^{1,*}, Yu. A. Podunay¹, and N. A. Martynenko²

¹Vyazemsky Karadag Scientific Station—Nature Reserve, Russian Academy of Sciences, Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas, Russian Academy of Sciences, Feodosiya, Russia

²Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

The diatom alga *Nitzschia* cf. *thermaloides* can be found in large numbers in puddles and lakes in the places where mud volcanoes function in the area of the Bulganak mud volcano field (eastern Crimea). Environmental conditions in such reservoirs are extreme: salinity is from 18 to $\geq 70\text{‰}$, insolation is extremely high, and ultraviolet radiation is very strong. The growth rate and the intensity of sexual reproduction of *N.* cf. *thermaloides* at different salinity and illumination levels have been studied in laboratory conditions. We have determined the limits of halotolerance and the optima of salinity and illumination for growth and sexual reproduction of the alga, capable of vegetative reproduction in an environment with salinity from 0 to 220‰. The range for sexual reproduction is narrower, from 6 to 54‰. The salinity of 22–25‰ and illumination of about 1.5 klx are optimal for both vegetative and sexual reproduction of *N.* cf. *thermaloides*.

Keywords: diatoms, mud volcanoes, vegetative reproduction, sexual reproduction, halotolerance, illumination, extremophiles