СОДЕРЖАНИЕ

Том 48, номер 4, 2022

Обзор

Антимикробная активность морских микроводорослей
А. В. Огнистая, Ж. В. Маркина, Т. Ю. Орлова 219

Оригинальные статьи

Исследование влияния температуры на эмбриональную диапаузу рака-отшельника *Pagurus proximus* Komai, 2000 (Decapoda: Paguridae) из залива Петра Великого Японского моря в лабораторных условиях
Е. С. Корниенко 233

Крупная фракция светящегося планктона в пиках биолюминесценции в Черном море
А. В. Темных, М. И. Силаков, А. В. Мельник 242

Состав и кинетика клеточной популяции гемоцитов у двустворчатого моллюска *Crenomytilus grayanus* (Dunker, 1853)
А. А. Анисимова, М. Н. Дягилева, О. А. Карушева, А. В. Синенко, И. А. Дмитриева 251

Организация целомической системы лофофора у брахиоподы *Coptothyris grayi* (Davidson, 1852) (Brachiopoda: Terebratulida)
А. В. Ратновская, Т. В. Кузьмина 262

Морфологическая изменчивость японской малоротой корюшки *Hypomesus nipponensis* McAllister, 1963 (Osmeriformes, Osmeridae) Дальнего Востока
Н. С. Романов 273

Краткие сообщения

Заросли взморника (род *Zostera* Linnaeus, 1753) и связанная с ними специфическая форма донного микрорельефа у южного берега Крыма (Черное море)
С. Е. Садогурский, С. А. Садогурская, Т. В. Белич 283

Contents

Volume 48, No 4, 2022

Review

Antimicrobial Activity of Marine Microalgae
A. V. Ognistaia, Zh. V. Markina, and T. Yu. Orlova 219

Original papers

A Laboratory Study of the Effect of Temperature on the Embryonic Diapause of the Hermit Crab *Pagurus proximus* Komai, 2000 (Decapoda: Paguridae) from Peter the Great Bay, Sea of Japan
E. S. Kornienko 233

Large Luminous Plankton in Bioluminescence Peaks in the Black Sea
A. V. Temnykh, M. I. Silakov, and A. V. Melnik 242

Composition and Kinetics of Hemocyte Population in the Mussel *Crenomytilus grayanus* (Dunker, 1853)
A. A. Anisimova, M. N. Diagileva, O. A. Karusheva, A. V. Sinenko, and I. A. Dmitrieva 251

Organization of the Lophophore Coelomic System in the Brachiopod *Coptothyris grayi* (Davidson, 1852) (Brachiopoda: Terebratulida)
A. V. Ratnovskaya and T. V. Kuzmina 262

Morphological Variability of the Japanese Smelt *Hypomesus nipponensis* McAllister, 1963 (Osmeriformes, Osmeridae) from the Far East
N. S. Romanov 273

Brief notes

Eelgrass Beds (Gen. *Zostera* Linnaeus, 1753) and the Related Specific Form of the Bottom Microrelief at the Southern Coast of Crimea (the Black Sea)
S. Ye. Sadogurskiy, S. A. Sadogurskaya, and T. V. Belich 283

EDN: EVWHHW
БИОЛОГИЯ МОРЯ, 2022, том 48, № 4, с. 219–232

ОБЗОР

УДК 574.57.042.2

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ МОРСКИХ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ

© 2022 г. А. В. Огнистая[1, 2, *], Ж. В. Маркина[1], Т. Ю. Орлова[1]
[1]*Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского (ННЦМБ) ДВО РАН, Владивосток 690041, Россия*
[2]*Дальневосточный федеральный университет, Владивосток 690091, Россия*
**e-mail: alya_lokshina@mail.ru*

Поступила в редакцию 27.05.2021 г.
После доработки 20.10.2021 г.
Принята к публикации 19.11.2021 г.

Для создания новых противобактериальных препаратов все чаще используются морские микроводоросли из отделов Chlorophyta, Bacillariophyta, Dinoflagellata, Haptophyta и Rhodophyta, а также цианобактерии (Cyanophyta). В обзоре обобщены сведения об антимикробной активности этих организмов; особое внимание уделено абиотическим факторам (свет, температура, соленость, pH среды, биогенные элементы), усиливающим их бактерицидные свойства. Анализируются механизмы действия и способы извлечения биоактивных веществ. Отмечены виды, обладающие потенциалом для подавления бактерий. Обсуждаются полученные из микроводорослей препараты, прошедшие клинические испытания и используемые в борьбе с бактериальными инфекциями, а также виды, на основе которых планируется создание новых антибиотиков.

Ключевые слова: микроводоросли, антимикробная активность, биоактивные соединения, экстракты
DOI: 10.31857/S0134347522040076

Вещества, выделенные из водорослей, используют в медицине на протяжении многих лет. Представители морской альгофлоры выработали ряд структурно разнообразных соединений, относящихся к оксилипинам, полисахаридам и производным жирных кислот (ЖК). Благодаря этим веществам микроводоросли способны подавлять рост и физиологическую активность конкурентных организмов: других видов водорослей, бактерий и грибов (Borowitzka, 1995). Полученные из микроводорослей сульфатированные полисахариды, пигменты мареннин и каротиноиды (например, астаксантин, фукоксантин и β-каротин), омега-3 жирные кислоты и полифенолы демонстрируют антиоксидантные, противовоспалительные, противоопухолевые и антибиотические свойства (Raposo et al., 2013a). К преимуществам одноклеточных водорослей относят короткое время генерации, а также способность к быстрой адаптации и перестройке обменных процессов, позволяющая выжить в стрессовых условиях (Lauritano et al., 2016), например, при дефиците питательных веществ (Maldonado et al., 2002), сезонных колебаниях температуры (Huseby et al., 2013) и освещенности (Depauw et al., 2012).

Чрезмерное и бесконтрольное применение антибиотиков в медицине может быть причиной дисбактериозов, сбоев в работе иммунной системы, нарушения обменных процессов и появления устойчивости бактерий к тому или иному противомикробному средству (Falaise et al., 2016). Антибиотикорезистентность – это биологическое явление, которое невозможно предупредить, а устойчивые к антибиотикам микроорганизмы представляют угрозу для людей (Mayer et al., 2011). В связи с этим исследование антимикробной активности одноклеточных водорослей особенно актуально. Противомикробные свойства многих представителей микроводорослей уже доказаны. Однако для создания нового препарата необходимо пройти ряд сложных этапов, среди которых проверка вещества на токсичность, предклинические испытания на животных, патентование, госэкспертиза, регистрация лекарственного средства и т.д. (Mohs, Greig, 2017); важно также понимать, какие виды и/или соединения перспективны для производства лекарств.

Цели настоящей работы – обобщить литературные данные об изменении антимикробной активности морских микроводорослей в зависимости от абиотических факторов среды, фазы роста культур и способа получения экстракта; проанализировать антибактериальные препараты, разрабатываемые на основе микроводорослей, и оценить перспективы применения альгокультур в качестве противомикробных агентов в медицине.

Абиотические факторы, регулирующие антимикробную активность морских микроводорослей

Интенсивность освещения и спектральный состав света. Световое излучение является определяющим фактором в биосинтезе и накоплении экзополисахаридов (ЭПС) и пигментов (в частности, фикобилипротеинов) водорослей (Guihéneuf, Stengel, 2015). В красной микроводоросли *Porphyridium purpureum* при усилении освещенности от 120 до 240 мкмоль/(м^2 × с) увеличивался биосинтез ЭПС, их содержание возрастало от 1.3 до 4.5 г/л. Однако при освещенности выше 120 мкмоль/(м^2 × с) накопление фикобилипротеинов заметно снижалось (Velea et al., 2011). Этот факт необходимо учитывать при производстве биоактивных соединений. Оптимальная производительность ЭПС, фикобилипротеинов, углеводов и β-каротинов у *P. purpureum* выявлена при пониженном освещении 30 мкмоль/(м^2 × с) (Guihéneuf, Stengel, 2015). Аналогичные результаты получены в экспериментах с *Porphyridium cruentum*, *P. purpureum* и *P. aerugineum* (см.: Jahn et al., 1984; Levy, Gantt, 1988).

Известно, что экзополисахариды *P. cruentum* проявляли антибиотическую активность в отношении бактерий *Vibrio harveyi* (см.: Risjani et al., 2021), *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* и *Salmonella enterica* (см.: Raposo et al., 2014), а фикобилипротеины *P. cruentum* и *P. aerugineum* – в отношении *S. aureus* и *Streptococcus pyogenes* (см.: Najdenski et al., 2013).

Показано, что антибиотический эффект может зависеть и от интенсивности освещения. В условиях высокой освещенности 130 мкмоль/(м^2 × с) культура *Attheya longicornis* демонстрировала антимикробное действие против метициллин-резистентного золотистого стафилококка (MRSA), *S. aureus* и *Enterococcus faecalis*, а при освещенности 30–75 мкмоль/(м^2 × с) не обладала противомикробными свойствами, но росла без видимых признаков стресса (Ingebrigtsen et al., 2016).

Изменение спектрального состава света с помощью светодиодов дает возможность влиять на физиологическое состояние клеток микроводорослей и улучшать их биохимический состав. Синий и красный спектры повышали эффективность фотосинтеза и увеличивали производство полисахаридов у *P. cruentum* (см.: You, Barnett, 2004), однако более подходящими для увеличения производства полисахаридов признаны зеленый и желтый спектры (Liqin et al., 2008). Освещение зеленых водорослей *Chlorococcum* sp. и *Tetraselmis* sp. светодиодами синего света, а диатомовой водоросли *Stauroneis* sp. светодиодами красного света стимулировало их бактерицидную активность в отношении *E. faecalis*, *E. coli*, *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Bacillus subtilis* (см.: McGee et al., 2020).

Соленость. Солевой стресс стимулировал накопление микроводорослями ценных биологически активных соединений. При увеличении солености от 29 до 50‰ содержание липидов в клетках *Dunaliella tertiolecta* повышалось на 7% (см.: Takagi et al., 2006). Увеличение солености от 0.4 до 4 M NaCl приводило к накоплению в клетках *D. salina* насыщенных и мононенасыщенных жирных кислот, а также к уменьшению количества полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК), содержание которых было приблизительно на 10% выше в культуре с низкой соленостью (Xu et al., 2020). Снижение солености до 13‰ стимулировало накопление ЖК у *Nannochloropsis* sp. до 40% (Pal et al., 2011). При солености 25‰ в составе ЖК зеленой водоросли *Tetraselmis tetrathele* преобладали тридециловые, миристиновые и пентадекановые кислоты, которые проявляли антимикробную активность (El-Kassas, El-Sheekh, 2016). Известно, что эйкозапентаеновая кислота (ЭПК), входящая в состав комплексных биологически активных добавок с омега3-жирными кислотами, в значительном количестве содержится в микроводоросли *Nannochloropsis* sp., которая используется в аквакультуре в качестве источника ЭПК. Показано, что соленость 25‰ является оптимальной для накопления этой кислоты в клетках микроводоросли (Adarme-Vega, 2014). Максимальное производство ЭПК и докозагексаеновой кислоты (ДГК) у *Pinguiococcus pyrenoidosus* происходило при солености 30‰ (Sang et al., 2012). Темпы роста *Schizochytrium limacinum* были наиболее высокими при солености от 18 до 27‰, в то время как максимум производства ДГК отмечен при снижении солености до 9‰ (Zhu et al., 2007). При солености 20‰ темпы роста *T. tetrathele* увеличились в 5 раз, а синтез каротиноидов возрос в 20 раз по сравнению с таковыми в контроле при солености 30‰. Культивирование *D. salina* при солености 40‰ привело к появлению антибактериальной активности против *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Salmonella* sp., *Streptococcus pyogenes*, *S. aureus*, *Vibrio cholerae*, *Klebsiella pneumoniae* и *Bacillus megaterium* (см.: Krishnakumar et al., 2013). Выращивание *Dunaliella* sp. при повышении концентрации NaCl от 10 до 20% (масса/объем) привело к усилению антимикробного эффекта в отношении *E. coli*, *S. aureus*, *Brochothrix thermosphacta* и *Enterobacter cloacae*. Авторы связывают этот эффект с солевым стрессом, при котором накапливается максимальное количество каротиноидов и жирных кислот (Kilic et al., 2018).

Температура. Исследование цианобактерий, относящихся к группе *Lyngbya–Phormidium–Plectonema* (LPP), родам *Oscillatoria* и *Synechocystis*, которых содержали при разной температуре, показало, что наибольшую бактерицидную активность

против *S. aureus*, *E. coli*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa* и других клинических изолятов, устойчивых к лекарственным средствам, проявляли культуры, выращенные при температуре 25°C (Pramanik et al., 2011).

Снижение температуры до 15°C привело к интенсивной выработке α-линоленовой кислоты и ДГК у *Isochrysis galbana*, а также ЭПК у *Pavlova lutheri* (см.: Gacheva, Gigova, 2014); при температуре 18°C увеличился синтез ПНЖК, α- и γ-токоферолов в клетках *P. cruentum* (см.: Durmaz et al., 2007). Предполагают, что антибиотические свойства *I. galbana* связаны с продукцией ПНЖК, вызывающих лизис бактериальных клеток (Molina-Cárdenas, Sánchez-Saavedra, 2017).

Кислотность среды. Показатель pH играет важную роль в жизнедеятельности микроводорослей, влияя на характер их метаболизма и биосинтез антимикробных продуктов. Для *Synechococcus* sp. показано, что при pH ≥ 8 активируется синтез противомикробных веществ, подавляющих *S. aureus* (см.: Noaman et al., 2004). У цианобактерий группы LPP, а также родов *Oscillatoria* и *Synechocystis* при pH от 9.5 до 4.5 быстро увеличивалась биомасса, однако противомикробная активность проявлялась только при pH 7.5 (Pramanik et al., 2011). Зеленые водоросли *Coccomyxa* sp., культивируемые при pH 2.5–4.5, проявляли активность против грамотрицательных бактерий *E. coli*, *S. enterica* и *Proteus mirabilis* (см.: Navarro et al., 2017).

Биогенные элементы. Выращенные на среде с недостатком азота диатомеи *Leptocylindrus danicus* и *L. aporus* обладали способностью к подавлению биопленки *Staphylococcus epidermidis*. При культивировании *L. danicus* в среде с недостатком азота отмечено 90% ингибирование биопленки; вид *L. aporus*, поддерживаемый в условиях одновременного дефицита азота и фосфора, подавлял биопленку на 64%, при недостатке азота – на 90% и фосфора – на 85% (Lauritano et al., 2016). Продукция домоевой кислоты у *Pseudo-nitzschia seriata* повышалась при низком содержании силикатов в среде (Fehling et al., 2004), а у *P. multiseries* и *P. australis* концентрация этой кислоты увеличивалась при дефиците железа и меди (Maldonado et al., 2002).

Показано, что высокое содержание сульфатов (от 52 до 104 мМ) активизировало накопление сульфатированных ЭПС, которые, по мнению авторов, повышают активность *P. cruentum* против *S. enterica* (см.: Raposo et al., 2014).

Противомикробная активность морских микроводорослей в зависимости от фазы роста культуры

Многие исследователи считают, что продукция соединений, ответственных за антибиотические свойства водорослей, связана с фазой роста альгокультуры (Gacheva, Gigova, 2014; Bashir et al., 2018). Максимальное накопление полисахаридов у *P. cruentum* отмечено в конце экспоненциальной фазы роста (Gacheva, Gigova, 2014). Известно, что именно полисахариды обеспечивают антимикробную активность этой микроводоросли в отношении *B. subtilis*, *S. aureus* и *Vibrio parahaemolyticus* (см.: Bashir et al., 2018), а также *S. pyogenes*, *E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *S. enterica* и *P. aeruginosa* (см.: Raposo et al., 2013a, 2013b, 2014). Для цианобактерий показано увеличение продукции ЭПС у *Phormidium tenue* и усиление противомикробных свойств *Nostoc insulare* в стационарной фазе; в постэкспоненциальной стадии роста максимальная антибактериальная активность отмечена у *Synechococcus leopoliensis*, *Oscillatoria angustissima* и *Calothrix parietina* (см.: Gacheva, Gigova, 2014). Антимикробные свойства *Synechocystis* sp. обусловлены большим количеством внутриклеточных водорастворимых метаболитов, обнаруженных в культуре, находящейся в стационарной фазе роста (Gacheva, Gigova, 2014).

В начале стационарной фазы роста в культуре *I. galbana* происходило накопление ЖК. Содержание стеаридоновой кислоты увеличилось на 24.3%, олеиновой на 15.7%, миристиновой на 13.8%, ДГК на 11.0%, пальмитиновой на 10.3% и α-линоленовой на 7.2%. Высокое содержание ЖК объясняет бактерицидные свойства, проявляемые *I. galbana* в этой фазе роста против *Vibrio harveyi*, *V. alginolyticus* и *V. campbellii* (см.: Molina-Cárdenas et al., 2014).

Антибактериальная активность экстракта морских микроводорослей в зависимости от способа его получения

Антимикробный эффект микроводорослей зависит от способа извлечения биологически активных веществ (табл. 1). Наиболее часто используемый метод выделения бактерицидных производных – это экстракция с помощью органических растворителей, таких как этанол, бутанол, метанол и этилацетат (Helen et al., 2014; McGee et al., 2020; George et al., 2020). Например, метанольные экстракты синезеленых водорослей *Spirulina major*, *Oscillatoria salina* и *Plectonema terebram* ингибировали рост бактерий *E. coli*, *K. pneumoniae* и *S. aureus*, тогда как их водные экстракты оказывали влияние на рост бактерий лишь в единичных случаях (Helen et al., 2014).

Водоросли отдела Chlorophyta имеют целлюлозную клеточную оболочку, что усложняет извлечение необходимых соединений, поэтому важным моментом становится выбор экстрагента. Например, при получении экстрактов из *Chlorella minutissima* и *Scenedesmus* sp. наиболее эффективным был этанол (Ördög et al., 2004), из *Chlorococ-*

Таблица 1. Антимикробная активность морских микроводорослей из разных систематических отделов

Вид/род водоросли	Действующее вещество	Механизм действия	Растворитель/метод экстракции	Вид/род чувствительных бактерий	Литературный источник
			Chlorophyta		
Chlorella marina (Butcher, 1952)	Набор ЖК	–	Метанол, бутанол	*Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella typhi*	Srinivasakumar, Rajashekhar, 2009
Chlorella minutissima (Fott, Novakova, 1969)	Набор ЖК	–	Этанол, метанол	*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*	Ördög et al., 2004
Dunaliella sp. (Teodoresco, 1905)	Стеариновая кислота; лютеин, α-каротин зеаксантин; феруловая кислота	–	Метанол, хлороформ	*E. coli, Enterobacter cloacae*, *S. aureus*	Kilic et al., 2018
Dunaliella salina (Teodoresco, 1905)	Индолы; триметилгептан, н-гексадекан, β-каротин, линоленовая кислота, ионон, циклоцитрал, неофитадиен, фитол	Повреждение оболочки бактериальной клетки, утечка цитоплазматического материала	Хлороформ/метанол (1 : 1), ацетон/хлороформ (1 : 1), бутанол, этанол, петролейный эфир, гексан	*Vibrio cholerae*, *Bacillus subtilis*, *Pectobacterium carotovorum*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas syringae*, *P. aeruginosae*, *E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumonia*, *P. vulgaris*, *S. aureus*	Herrero et al., 2006; Srinivasakumar, Rajashekhar, 2009; Krishnakumar et al., 2013; Maadane et al., 2017; Pane et al., 2015; Ambrico et al., 2020
Micractinium sp. (Fresenius, 1858)	–	–	Метанол, этанол	*P. aeruginosa*, *S. aureus*, *B. subtilis*	McGee et al., 2020
Nannochloropsis sp. (Hibberd, 1981)	Набор ЖК	–	Вода	*Vibrio alginolyticus*, *V. lentus*, *V. splendidus*, *V. scophthalmi*, *V. anguillarum*	Kokou et al., 2012
Nannochloropsis gaditana (Lubian, 1982)	Фенолы, каротиноиды, ЭПК, пальмитолеиновая и олеиновая кислоты	–	Этанол	*P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli*	Maadane et al., 2017
Nannochloropsis oceanica (Suda, Miyashita, 2002)	Фенольные соединения	–	Гексан, метанол	*S. pyogenes*, *B. subtilis*, *E. coli*	Sushanth, Rajashekhar, 2015
Nannochloropsis oculata (Droop, Hibberd, 1981)	ЭПК, фитолы	Нейтрализация адгезионных веществ	Хлороформ/гексан, метанол, бутанол, этанол	*K. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *B. subtilis*, *E. coli*	Srinivasakumar, Rajashekhar, 2009
Tetraselmis sp. (Stein, 1878)	Пальмитиновая, олеиновая, линолевая кислоты, полифенолы	То же	Метанол, этанол, ацетон	*E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *E. faecalis*, *B. subtilis*, *Pseudomonas* sp.	Rajendran et al., 2014; Maadane et al., 2017; McGee et al., 2020; Hussein et al., 2020

Таблица 1. Продолжение

Вид/род водоросли	Действующее вещество	Механизм действия	Растворитель/метод экстракции	Вид/род чувствительных бактерий	Литературный источник
Tetraselmis chui (Butcher, 1959)	Набор ЖК	–	Вода	*Vibrio parahaemolyticus*, *V. splendidus*, *V. scophthalmi*	Kokou et al., 2012
Tetraselmis suecica (Butcher, 1959)	ЖК, докозенамид метилкапрат, метилстеарат, пальмитиновая, ноноевая и каприловые кислоты	–	Метанол/хлороформ (1 : 1), неочищенный экстракт, изопропанол	*Proteus* sp., *Streptococcus pyogenes*, *Salmonella* sp., *Bacillus megaterium*	Bai, Krishnakumar, 2013
			Bacillariophyta		
Amphora sp. (Kützing, 1844)	Фукоксантин, биосинтезированные частицы	–	Ацетон	*E. coli*, *Streptococcus mutans*, *Bacillus stearothermophilus*	Jena et al., 2015
Asterionella glacialis (Castracane, 1886)	ЭПК	–	Этанол, вода	*S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *E. coli*, *Micrococcus luteus*	Viso et al., 1987
Attheya longicornis (Crawford, Gardner, 1994)	–	–	Метанол	Метициллин-резистентный золотистый стафилококк (MRSA), *S. aureus*	Ingebrigtsen et al., 2016
Chaetoceros calcitrans (Takano, 1968)	Фенольные соединения, ЖК	–	Этанол, метанол, гексан, бутанол	*S. aureus*, *S. pyogenes*, *B. subtilis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *V. cholerae*	Srinivasakumar, Rajashekhar, 2009; Sushanth, Rajashekhar, 2015
Chaetoceros muelleri (Lemmermann, 1898)	Триглицериды, диглицериды, моноглицериды, стерины, свободные жирные кислоты	Лизис бактериальных протопластов, разрушение клеточной мембраны	Экстрактор сверхкритической жидкости suprex prepmaster, гексан, дихлорметан, метанол	*S. aureus*, *E. coli*, *B. subtilis*	Mendiola et al., 2007; Sánchez-Saavedra et al., 2010
Chaetoceros lorenzianus (Grunow, 1863)	–	–	Ацетон, хлороформ	*B. subtilis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *V. cholerae*, *Salmonella paratyphi*	Walter, Mahesh, 2000
Chaetoceros pseudocurvisetus (Mangin, 1910)	Набор ЖК	–	Ацетон/хлороформ, смола Amberlite	*Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium tuberculosis*	Lauritano et al., 2018
Haslea karadagensis (Davidovich, Gastineau, Mouget, 2012); *Haslea provincialis* (Gastineau, Hansen, Mouget, 2016); *Haslea ostrearia* (Simonsen, 1974)	Мареннин	Взаимодействует с липополисахаридами на поверхности бактерии, разрушая внешнюю мембрану	Жидкий азот с буфером	*Vibrio aesturianus*, *Polaribacter irgensii*, *Pseudoalteromonas elyakowii*	Gastineau et al., 2012a, 2012b

Таблица 1. Продолжение

Вид/род водоросли	Действующее вещество	Механизм действия	Растворитель/метод экстракции	Вид/род чувствительных бактерий	Литературный источник
Leptocylindrus aporus (Nanjappa, Zingone, 2013); *Leptocylindrus danicus* (Cleve, 1889)	–	Ингибирование биопленки	Вода/ацетон (1 : 1), смола Amberlite	*S. epidermidis*, *S. aureus*	Lauritano et al., 2016
Nitzschia sp. (Hassall, 1845)	–	Ингибирование ферментов ДНК, образование ямок в клеточной стенке, изменение проницаемости мембраны и утечка цитоплазмы	Гексан	*E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*	Borase et al., 2017
Nitzschia communis (Rabenhorst, 1860)	–	–	Этанол	*S. aureus*	Montalvão et al., 2016
Navicula delognei (Heurck, 1880)	Фитолы, ЭПК, гексадекатетраеновая, гексадекатриеновая, октадекатетраеновая кислоты	–	Хлороформ/метанол	*S. aureus*, *S. epidermidis*, *Salmonella typhimurium*, *P. vulgaris*	Findlay, Patil, 1984
Odontella aurita (Agardh, 1832)	–	–	Этанол	*P. vulgaris*, *V. parahaemolyticus*, *Staphylococcus haemolyticus*	Hemalatha et al., 2017
Phaeodactylum tricornutum (Bohlin, 1898)	ЭПК, гексадекатриеновая, пальмитолеиновая кислоты, полифенолы	Ингибирование роста, подавление синтеза ЖК бактерий, действие на клеточную мембрану, снижение поглощения питательных веществ и ингибирование клеточного дыхания	Метанол/вода (5 : 1), этанол, этилацетат	*S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *M. luteus, S. epidermidis*	Desbois et al., 2009; Кривошеева и др., 2013; Maadane et al., 2017
Porosira glacialis (Jørgensen, 1905)	Пептиды и другие низкомолекулярные соединения	–	Метанол/дихлорметан (1 : 1)	*Streptococcus agalactiae*	Osvik et al., 2021
Rhizosolenia alata (Brightwell, 1858)	–	–	Хлороформ/метанол (1 : 1), хлороформ	*B. subtilis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *P. vulgaris*, *S. paratyphi, V. cholerae*	Venkatesan et al., 2007
Skeletonema sp. (Greville, 1865)	ЭПК и ДГК	–	Метанол	*B. subtilis*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*	Bhattacharjya et al., 2020; Mishra et al., 2020
Skeletonema costatum (Cleve, 1873)	Ненасыщенные и насыщенные жирные кислоты	Влияние на клеточную стенку бактерий	Гексан, смола Amberlite, ацетон/хлороформ, этанол	*B. subtilis*, *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *S. pyogenes*, *S. aureus*	Sushanth, Rajashekhar, 2015; Lauritano et al., 2018

Таблица 1. Продолжение

Вид/род водоросли	Действующее вещество	Механизм действия	Растворитель/метод экстракции	Вид/род чувствительных бактерий	Литературный источник
Thalassiosira sp. (Cleve, 1873)	–	–	Биосинтезированные частицы AgNP	*E. coli*, *B. subtilis*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*	Mishra et al., 2020
Thalassiothrix frauenfeldii (Grunow, 1880)	–	–	Ацетон, смола Amberlite, хлороформ	*B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli*, *S. paratyphi*	Walter, Mahesh, 2000
Thalassiosira rotula (Meunier, 1910)	–	–	Гексан/трет-бутилметиловый эфир, хлороформ/метанол	*S. aureus*, *Bacillus pumilus*, *Vibrio harveyi*, *M. luteus*	Qin et al., 2013
Thalassiosira weissflogii (Fryxell, Hasle, 1977)	Фенолы, алкалоиды и аминокислоты	–	Метанол	*E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis*	Shalini et al., 2019
Dinoflagellata					
Amphidinium sp. (Claperède, Lachmann, 1859)	Амфидинины C–F, набор ЖК	–	Н-гексан, дихлорметан/метанол, метанол	*S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*, *Shewanella* sp., *Pseudoalteromonas lipolytica*, *Paracoccus* sp., *Pseudoalteromonas* sp.	Kubota et al., 2014; Zea-Obando et al., 2018
Heterocapsa circularisquama (Horiguchi, 1995)	Порфирин	Повреждение клеточной стенки, потеря целостности мембран	Метанол	*S. aureus*, *B. subtilis*	Wencheng et al., 2018
Karenia brevis (Hansen, Moestrup, 2000)	–	–	Гексан/этилацетат	*K. pneumoniae*, MRSA	Burleson, 2012
Lingulodinium polyedra (Dodge, 1989)	Набор ЖК	Воздействие на клеточную стенку	Вода, метанол, гексан, хлороформ	*S. aureus*, *Vibrio vulnificus*	Quijano-Scheggia et al., 2016
Prorocentrum hoffmannianum (Faust, 1990)	Окадаевая кислота	–	Метанол	*E. faecalis*	De Vera et al., 2018
Pyrodinium bahamense (Plate, 1906)	–	–	Гексан, метанол	*K. pneumoniae*, *S. aureus*, MRSA	Burleson, 2012
Haptophyta					
Isochrysis sp. (Parke, 1949)	Набор ЖК	Нарушение восприятия кворума	Этанол, ацетон	*V. alginolyticus*, *V. lentus*, *V. scophthalmi*, *S. paratyphi*, *Shigella boydii*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. aeruginosa*	Mendiola et al., 2007; Kokou et al., 2012; Maadane et al., 2017
Isochrysis galbana (Parke, 1949)	Набор ЖК, стеролы, каротиноиды, феофитин *a*, хлорофиллид *a*, линолевая кислота	Нарушение поступления питательных веществ, ингибирование редуктазы (белка-носителя)	Н-бутанол, этанол, метанол, хлороформ	*M. tuberculosis*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. vulgaris*, *E. coli*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, *K. pneumonia*, *S. typhi*, *B. subtilis*, *P. fluorescens*	Lazarus, Bhimba, 2008; Srinivasakumar, Rajashekhar, 2009; Prakash et al., 2010; Alsenani et al., 2020

Таблица 1. Продолжение

Вид/род водоросли	Действующее вещество	Механизм действия	Растворитель/метод экстракции	Вид/род чувствительных бактерий	Литературный источник
Pavlova sp. (Butcher, 1952)	Ненасыщенные жирные кислоты, длинноцепочечные алифатические спирты, стигмастерин	–	Ацетон, метанол, хлороформ	*V. parahaemolyticus*, *P. aeruginosa*, *Aeromonas hydrophila*	George et al., 2020
Pavlova lutheri (Droop, Green, 1975)	ЭПС	–	Этанол, метанол, хлороформ, бутанол, петролейный эфир	*B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *S. pyogenes*, *P. vulgaris, V. cholerae*	Srinivasakumar, Rajashekhar, 2009; Bashir et al., 2018
Phaeocystis pouchetii (Hariot, Lagerheim, 1896)	Акриловая кислота	–	4-метоксифенол	*E. coli*, *Aerobacter aerogenes*	Sieburth et al., 1961
		Rhodophyta			
Porphyridium sp. (Nägeli, 1849)	Сульфатированные полисахариды + хитозан + цинк	Физический барьер для проникновения бактерий	Метанол	*B. subtilis*, *S. aureus*	Liberman et al., 2021
Porphyridium cruentum (Nägeli, 1849)	ЭПС, фикоэритрины, пальмитиновая кислота, фенолы	Предотвращает адгезию, не позволяя бактериям формировать биопленку; ингибирование ферментов, подавление синтеза нуклеиновых кислот и белков	Этанол, дихлорметан, метанол/хлороформ	*S. aureus*, *S. pyogenes*, *S. typhimurium*, *E. coli*, *S. enteritidis*, *P. aeruginosa*	Najdenski et al., 2013; Raposo et al., 2014
Porphyridium purpureum (Drew, Ross, 1965)	ЭПС	–	Метанол, гексан	*B. subtilis*, *E. coli*, *S. aureus*	Raposo et al., 2013a
Porphyridium sordidum (Geitler, 1932)	ЭПС	–	Этанол	*B. subtilis*, *E. coli*, *P. fluorescens*	Raposo et al., 2013b
Rhodella reticulata (Deason, Butler, Rhyne, 1983)	ЭПС	–	Метанол/хлороформ	*S. aureus*, *B. cereus*, *S. pyogenes*	Najdenski et al., 2013
		Cyanophyta			
Blennothrix cantharidosma (Anagnostidis, Komárek, 1988)	Тумоновая кислота	Ингибирует чувство кворума	Дихлорметан/метанол	*V. harveyi*	Clark et al., 2008
Calcothrix sp. (Desvaux, 1830)	–	–	Хлороформ/вода	*S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*	Sundaramanickam et al., 2015
Fischerella sp. (Gomont, 1895)	Изонитрилы H и I	–	Метанол/вода	*S. aureus*, *B. subtillis*	Raveh, Carmeli, 2007

Таблица 1. Продолжение

Вид/род водоросли	Действующее вещество	Механизм действия	Растворитель/метод экстракции	Вид/род чувствительных бактерий	Литературный источник
Lyngbya sp. (Gomont, 1892)	–	–	Этанол, метанол	*E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *B. subtilis*	Sundaramanickam et al., 2015
Lyngbya majuscule (Gomont, 1892)	Лингибиновая кислота, питипептолиды *A* и *B*, лагунамид *C*, таниколид	–	Этанол, метанол	*S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *E. coli*, *K. pneumoniae*	Sethubathi, Prabu, 2010
Lyngbya, Phormidium, Plectonema sp. (Gomont, 1892)	–	–	Метанол	*E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*	Pramanik et al., 2011
Nostoc sp. (Bornet, Flahault, 1886)	–	–	Хлороформ/вода	*P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtillis*	Sundaramanickam et al., 2015
Neolyngbya sp. (Caires, Sant'Anna Nunes, 2017)	–	Ингибирование микробной биопленки	Метанол, этанол, уксусная кислота	*B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Salmonella choleraesuis*	Cairesa et al., 2018
Neolyngbya arenicola (Caires, Sant'Anna Nunes, 2017)	–	–	Этанол	*E. coli*, *P. aeruginosa*	Cairesa et al., 2018
Oscillatoria sp. (Gomont, 1892)	Набор ЖК	–	Этанол, неочищенный экстракт, метанол	*S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis, K. pneumoniae*, *E. coli*, *Staphylococcus* sp., *Salmonella* sp.	Sethubathi, Prabu, 2010; Pramanik et al., 2011; Rajendran et al., 2014
Oscillatoria subuliformis (Kützing, Gomont, 1892)	Пальмитиновая и олеиновая кислоты	–	Метанол	*P. aeruginosa*	LewisOscar et al., 2018
Phormidium sp. (Gomont, 1892)	–	–	Хлороформ/вода	*S. aureus*, *B. subtilis*	Sundaramanickam et al., 2015
Phormidium versicolor (Wartmann, 1865)	Полисахариды	Разрушение клеточной стенки	Хлороформ/бутиловый спирт (4 : 1)	*S. aureus*, *M. luteus*, *E. coli*, *Salmonella enterica*	Belhaj et al., 2017
Synechococcus sp. (Nägeli, 1849)	–	–	Гексан, дихлорметан, метанол, вода	*Clavibacter michiganensis*, *Cellulomonas uda*	Martins et al., 2008
Synechocystis sp. (Sauvageau, 1892)	–	–	Гексан, дихлорметан, метанол, вода	*C. michiganensis*, *C. uda*	Martins et al., 2008

Примечание. Прочерк обозначает, что действующее вещество или механизм действия не определяли.

cum sp. и *Tetraselmis striata* – метанол (McGee et al., 2020), а из *T. convolutae* и *Nannochloropsis oculata* – этилацетат (Hussein et al., 2020). Экстракты *N. oculata* и *T. suecica*, приготовленные с помощью комбинации растворителей метанол/гексан в соотношении 1.5 : 1.0, были активны в отношении *B. subtilis*, *K. pneumoniae* и *Streptococcus uberis*. Ингибирование роста *K. pneumoniae* отмечено при воздействии вытяжки, полученной при экстракции *Chlorella* sp. смесью метанол/гексан в соотношении 1.5 : 1.0 (Hussein et al., 2020).

Выделенные двумя методами экстракты диатомовых водорослей *Skeletonema costatum* и *Chaetoceros pseudocurvisetus* по-разному действовали против *Mycobacterium tuberculosis* и *M. bovis*. В первом методе использовали смолу Amberlite XAD16N (Sigma-Aldrich); второй метод основан на экстракции ацетоном и хлороформом. Противотуберкулезный эффект полученных экстрактов выявлен при применении обоих методов. Однако смола Amberlite показала лучший результат, обеспечив наибольший выход ответственных за противомикробные свойства *S. costatum* и *C. pseudocurvisetus* гидрофобных соединений – гидроксифеофорбида А, феофорбида А и гексадекатетраеноата (Lauritano et al., 2018).

Ацетоновые экстракты гаптофитовой водоросли *Pavlova* sp. подавляли рост некоторых микроорганизмов, при этом зона ингибирования вокруг бумажных дисков, пропитанных экстрактом, составила для *V. parahaemolyticus* 11 см, а для *P. aeruginosa* – 15 см. Вытяжки из *Pavlova* sp., полученные с помощью комбинации растворителей метанол/хлороформ, сработали против *V. parahaemolyticus* и *P. aeruginosa*; зона ингибирования составила 10 см (George et al., 2020).

Препараты, созданные на основе микроводорослей

Среди одноклеточных водорослей антибиотическая активность впервые была выявлена у пресноводной водоросли *Chlorella vulgaris* (см.: Pratt et al., 1944). Вещество, ингибирующее рост бактерий, назвали хлореллином. В настоящее время хлореллин применяется для лечения дисбактериозов кишечника и обогащения продуктов питания (Nishimoto et al., 2021). Он подавляет развитие стафилококков, стрептококков, кишечной палочки и возбудителей брюшного тифа; эффективность этого вещества приравнивают к таковой антибиотиков ампициллина и оксациллина. Показано, что от физиологического состояния водорослей зависят противомикробные свойства хлореллина; они возрастают со 2-го по 16-й день выращивания культуры водорослей, а затем ослабевают (Сальникова, 1977).

Изолированный из *Lyngbya majuscula* малинголид – это первый антибиотик, который ингибирует рост *S. pyogenes*, *S. aureus* и *B. subtilis*. Известно, что малинголид нарушает кворум-зондирование (QS) синегнойной палочки *Pseudomonas aeruginosa* (см.: Dobretsov et al., 2010). Большинство выделенных из цианобактерий рода *Nostoc* поликетидных антибиотиков, включая карбамидоциклофаны, демонстрировали минимальную ингибирующую концентрацию в наномолярном диапазоне против MRSA. Алкалоид калотриксин А, продуцируемый цианобактериями рода *Calothrix*, ингибировал бактериальную РНК-полимеразу у стафилококков. Выделенный из *Cylindrospermum stagnale* цилиндрофридин проявлял умеренную активность против MRSA и *Streptococcus pneumoniae* (см.: Preisitsch et al., 2016).

На основе сульфатированных полисахаридов, полученных из красной водоросли *Porphyridium* sp., разработан гидрогель, действующий как физический барьер для проникновения бактерий. Полисахариды *Porphyridium* sp. – это жесткие и стабильные соединения, которые обладают ингибирующей активностью против *B. subtilis*. Гидрогели на основе *Porphyridium* sp. в сочетании с хитозаном применяются для заживления ран. Добавление цинка в комплекс гидрогеля и хитозана повышает его антимикробные свойства (Liberman et al., 2016, 2021).

Разработан новый метод биосинтеза наночастиц золота с помощью микроводоросли *Nitzschia* sp. Белки и полисахариды этой диатомеи участвовали в восстановлении и стабилизации наночастиц золота, сохраняя при этом жизнеспособность клеток. Восстановленные таким образом наночастицы золота затем связывались с пенициллином и стрептомицином. Эта комбинация приводила к усиленному (по сравнению с действием антибиотиков пенициллинового ряда) ингибированию *E. coli*, *P. aeruginosa* и *S. aureus*. Наночастицы золота, полученные с помощью *Nitzschia* sp., увеличивали способность молекул антибиотика проникать в бактериальную клетку (Borase et al., 2017).

Поликристаллические наночастицы серебра, биосинтезированные диатомовой водорослью *Amphora* sp., проявляли активность в отношении *E. coli*, *Streptococcus mutans* и *Bacillus stearothermophilus*. В отсутствие $AgNO_3$ противомикробный потенциал культуры микроводорослей не обнаружен. Благодаря выраженной бактерицидной активности биосинтезированные диатомеей *Amphora* sp. наночастицы серебра могут действовать как мощный противомикробный агент (Jena et al., 2015).

Перспективы исследований антимикробной активности морских микроводорослей

С каждым годом увеличивается количество работ, посвященных изучению антимикробных свойств микроводорослей в лабораторных условиях и поиску новых потенциальных источников биологически активных веществ. Исследования метаболитов микроводорослей позволяют получить соединения с уникальными химической структурой и механизмом действия, поэтому усилия многих ученых направлены на разработку новых методов культивирования водорослей и очистку их метаболитов. Считают, что одним из наиболее эффективных способов стимуляции антимикробной активности микроводорослей является создание стрессовых условий при их выращивании.

На данный момент не существует единой аналитической платформы или методологии, при помощи которой можно анализировать смесь химических веществ одновременно. Метаболиты микроводорослей химически разнообразны, поэтому для достижения максимальной полноты анализа используют несколько химических методов их разделения. Многие исследователи не смогли выйти на этап клинических испытаний из-за невозможности идентифицировать вещество, связанное с бактерицидными свойствами альгокультур. На стадии разработки лекарственных препаратов огромной проблемой становятся предполагаемые побочные эффекты. Тесты на животных не могут гарантировать безопасность препаратов для человека, так как условия использования препаратов в опыте отличаются от условий их применения в клинической практике. Кроме того, ограничена длительность испытаний, иногда недоступна (или неполная) информация о редких и серьезных побочных реакциях, хронической токсичности, тестировании в специфических группах (например, при лечении детей, пожилых людей или беременных женщин) и о лекарственном взаимодействии.

Однако, несмотря на указанные сложности, исследования биологической активности микроскопических водорослей и продуктов их жизнедеятельности по-прежнему находятся в центре внимания; разработка новых методов поиска антибиотиков среди продуктов метаболизма микроводорослей приобретает все большую актуальность. Разработанные на основе одноклеточных водорослей и уже прошедшие клинические испытания антибактериальные препараты хлореллин и малинголид подтверждают перспективность микроводорослей как источника новых антибиотиков. Основными подходами, связанными с внедрением новых противомикробных препаратов на основе микроводорослей, являются их выделение из морской среды и введение в культуру, подбор условий культивирования, а также экстракция и химический анализ биологически активных соединений. Очевидно, что данные этапы нуждаются в дальнейшем развитии и совершенствовании.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена за счет гранта Российского научного фонда, проект № 21-74-30004.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Кривошеева А.М., Бузолёва Л.С., Айздайчер Н.А. Биологическое действие экзометаболитов морской микроводоросли *Phaeodactylum tricornutum* на размножение *Staphylococcus aureus* и *Salmonella typhimurium* // Междунар. журн. эксперимент. образования. 2013. № 102. С. 283–287.

Сальникова М.Я. Хлорелла – новый вид корма. М.: Колос. 1977. 96 с.

Adarme-Vega T.C. Optimization of microalgal growth conditions for production of eicosapentaenoic acid (EPA) // PhD Thesis. Brisbane, Australia: University of Queensland. 2014. P. 132–134.

Alsenani F., Tupally K.R., Chua E.T. et al. Evaluation of microalgae and cyanobacteria as potential sources of antimicrobial compounds // Saudi Pharm. J. 2020. V. 28. P. 1834–1841.

Ambrico A., Trupo M., Magarelli R. Effectiveness of *Dunaliella salina* extracts against *Bacillus subtilis* and bacterial plant pathogens // Pathogens. 2020. V. 9. Art. ID 613. https://doi.org/10.3390/pathogens9080613

Bai V.D.M., Krishnakumar S. Evaluation of antimicrobial metabolites from marine microalgae *Tetraselmis suecica* using gas chromatography – mass spectrometry (GC – MS) analysis // Int. J. Pharm. Pharm. Sci. 2013. V. 5. P. 17–23.

Bashir K.M.I., Lee J.-H., Petermann M.J. et al. Estimation of antibacterial properties of Chlorophyta, Rhodophyta and Haptophyta microalgae species // Microbiol. Biotechnol. Lett. 2018. V. 46. № 3. P. 225–233.

Belhaj D., Frikha D., Athmouni K. et al. Box-Behnken design for extraction optimization of crude polysaccharides from Tunisian *Phormidium versicolor* cyanobacteria (NCC 466): Partial characterization, *in vitro* antioxidant and antimicrobial activities // Int. J. Biol. Macromol. 2017. V. 105. P. 1501–1510.

Bhattacharjya R., Marella T.K., Tiwari A. et al. Bioprospecting of marine diatoms *Thalassiosira, Skeletonema* and *Chaetoceros* for lipids and other value-added products // Bioresour. Technol. 2020. V. 318. Art. ID 124073. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124073

Borase H.P., Patil C.D., Suryawanshi R.K. et al. Mechanistic approach for fabrication of gold nanoparticles by *Nitzs-*

chia diatom and their antibacterial activity // Bioprocess Biosyst. Eng. 2017. V. 40. P. 1437–1446.

Borowitzka M.A. Microalgae as sources of pharmaceuticals and other biologically active compounds // J. Appl. Phycol. 1995. V. 7. P. 3–15.

Burleson C. Production of bioactive secondary metabolites by Florida harmful bloom dinoflagellates *Karenia brevis* and *Pyrodinium bahamense* // PhD Dissertation. Tampa, Fla.: Univ. of South Florida. 2012. V. 21. P. 45–49.

Cairesa T.A., da Silva A.M.S., Vasconcelosb V.M. et al. Biotechnological potential of *Neolyngbya* (Cyanobacteria), a new marine benthic filamentous genus from Brazil // Algal Res. 2018. V. 36. P. 1–9.

Clark B.R., Engene N., Teasdale M.E. et al. Natural products chemistry and taxonomy of the marine cyanobacterium *Blennothrix cantharidosmum* // J. Nat. Prod. 2008. V. 71. P. 1530–1537.

Depauw F.A., Rogato A., Ribera d'Alcala M., Falciatore A. Exploring the molecular basis of responses to light in marine diatoms // J. Exp. Bot. 2012. V. 63. P. 1575–1591.

Desbois A.P., Mearns-Spragg A., Smith V.J. A fatty acid from the diatom *Phaeodactylum tricornutum* is antibacterial against diverse bacteria including multi-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) // Mar. Biotechnol. 2009. V. 11. P. 45–52.

De Vera C.R., Díaz Crespín G., Hernández Daranas A. et al. Marine microalgae: promising source for new bioactive compounds // Mar. Drugs. 2018. V. 16. № 9. P. Art. ID 317. https://doi.org/10.3390/md16090317

Dobretsov S., Teplitski M., Alagely A. et al. Malyngolide from the cyanobacterium *Lyngbya majuscula* interferes with quorum sensing circuitry // Environ. Microbiol. Rep. 2010. V. 2. P. 739–744.

Durmaz Y., Monteiro M., Bandarra N. et al. The effect of low temperature on fatty acid composition and tocopherols of the red microalga *Porphyridium cruentum* // J. Appl. Phycol. 2007. V. 19. P. 223–227.

El-Kassas H.Ya., El-Sheekh M.M. Induction of the synthesis of bioactive compounds of the marine alga *Tetraselmis tetrathele* (West) Butcher grown under salinity stress // Egypt. J. Aquat. Res. 2016. V. 42. № 4. P. 385–391.

Falaise C., François C., Travers M.A. et al. Antimicrobial compounds from eukaryotic microalgae against human pathogens and diseases in aquaculture // Mar Drugs. 2016. V. 14. P. 159–164.

Fehling J., Green D.H., Davidson K. et al. Domoic acid production by *Pseudo-nitzschia seriata* (Bacillariophyceae) in Scottish waters // J. Phycol. 2004. V. 40. P. 622–630.

Findlay J.A., Patil A.D. Antibacterial constituents of the diatom *Navicula delognei* // J. Nat. Prod. 1984. V. 47. P. 815–818.

Gacheva G.V., Gigova L.G. Biological activity of microalgae can be enhanced by manipulating the cultivation temperature and irradiance // Cent. Eur. J. Biol. 2014. V. 9. № 12. P. 1168–1181.

Gastineau R., Hardivillier Ya., Leignel V. et al. Greening effect on oysters and biological activities of the blue pigments produced by the diatom *Haslea karadagensis* (Naviculaceae) // Aquaculture. 2012a. V. 24. P. 368–369.

Gastineau R., Pouvreau J.-B., Hellio C. et al. Biological activities of purified marennine, the blue pigment responsible for the greening of oysters // J. Agric. Food Chem. 2012b. V. 60. P. 3599–3605.

George S., Chellappan A., Antonykennady E. et al. Effect of algal antimicrobials on selected aquatic pathogen and characterization of bioactive compounds // J. Appl. Pharm. Sci. 2020. V. 10. № 9. P. 122–133.

Guihéneuf F., Stengel D. Towards the biorefinery concept: Interaction of light, temperature and nitrogen for optimizing the co-production of high-value compounds in *Porphyridium purpureum* // Algal Res. 2015. V. 10. P. 152–163.

Helen D.Y., Appavoo R.M., Parthipan B. Antibiotic activity of Cyanobacteria isolated from salt pans of Kanyakumari District (South India) against human pathogenic bacteria // Int. J. Curr. Sci. 2014. V. 11. P. 32–39.

Hemalatha A., Mohammed Esa S.A.R., Suresh M. et al. Identification of *Odontella aurita* by rbcL gene sequence – a high antibacterial potential centric marine diatom // Mitochondrial DNA. Part A. 2017. V. 28. P. 655–661.

Herrero M., Ibáñez E., Cifuentes A. et al. Dunaliella salina microalga pressurized liquid extracts as potential antimicrobials // J. Food Prot. 2006. V. 69. P. 2471–2477.

Huseby S., Degerlund M., Eriksen G. K. et al. Chemical diversity as a function of temperature in six northern diatom species // Mar. Drugs. 2013. V. 11. P. 4232–4245.

Hussein H.A., Syamsumir D.F., Radzi S.A.M. et al. Phytochemical screening, metabolite profiling and enhanced antimicrobial activities of microalgal crude extracts in co-application with silver nanoparticle // Bioresour. Bioprocess. 2020. V. 7. Art. ID 39. https://doi.org/10.1186/s40643-020-00322-w

Ingebrigtsen R.A., Hansen E., Andersen J.H., Eilertsen H.C. Light and temperature effects on bioactivity in diatoms // J. Appl. Phycol. 2016. V. 28. P. 939–950.

Jahn W., Steinbiss J., Zetsche K. Light intensity adaptation of the phycobiliprotein content of the red alga *Porphyridium* // Planta. 1984. V. 161. P. 536–539.

Jena J., Pradhan N., Dash B.P. et al. Pigment mediated biogenic synthesis of silver nanoparticles using diatom *Amphora* sp. and its antimicrobial activity // J. Saudi Chem. Soc. 2015. V. 19. P. 661–666.

Kilic N.K., Erdem K., Donmez G. Bioactive compounds produced by *Dunaliella* species, antimicrobial effects and optimization of the efficiency // Turk. J. Fish. Aquat. Sci. 2018. V. 19. P. 923–933.

Kokou F., Makridis P., Kentouri M., Divanach P. Antibacterial activity in microalgae cultures // Aquat. Res. 2012. V. 43. P. 1520–1527.

Krishnakumar S., Bai V.D.M., Rajan A. Evaluation of bioactive metabolites from halophilic microalgae *Dunaliella salina* by GC – MS analysis // Int. J. Pharm. Pharm. Sci. 2013. V. 5. № 4. P. 296–303.

Kubota T., Iwai T., Sakai K. et al. Amphidinins C–F, amphidinolide Q analogues from marine dinoflagellate *Amphidinium* sp. // Org. Lett. 2014. V. 16. № 21. P. 5624–5627.

Lazarus S., Bhimba V. Antibacterial activity of marine microalgae against multidrug resistant human pathogens // Int. J. Appl. Bioeng. 2008. V. 2. P. 32–34.

Lauritano C., Andersen J.H., Hansen E. et al. Bioactivity screening of microalgae for antioxidant, anti-inflammatory, anticancer, anti-diabetes, and antibacterial activities // Front. Mar. Sci. 2016. V. 3. P. 68/1–68/12.

Lauritano C., Martín J., de la Cruz M. et al. First identification of marine diatoms with anti-tuberculosis activity // Sci. Rep. 2018. V. 8. Art. ID 2284. https://doi.org/10.1038/s41598-018-20611-x

Levy I., Gantt E. Light acclimation in *Porphyridium purpureum* (Rhodophyta): growth, photosynthesis and phycobilisomes // J. Phycol. 1988. V. 24. P. 452–458.

LewisOscar F., Nithya C., Alharbi S.A. et al. Microfouling inhibition of human nosocomial pathogen *Pseudomonas aeruginosa* using marine cyanobacteria // Microb. Pathog. 2018. V. 114. P. 107–115.

Liberman G.N., Ochbaum G., Arad S., Bitton R. The sulfated polysaccharide from a marine red microalga as a platform for the incorporation of zinc ions // Carbogydr. Polym. 2016. V. 152. P. 658–664.

Liberman G.N., Ochbaum G., Bitton R., Arad S. Antimicrobial hydrogels composed of chitosan and sulfated polysaccharides of red microalgae // Polymer. 2021. V. 215. Art. ID 123353. https://doi.org/10.1016/j.polymer.2020.123353

Liqin S., Wang C., Lei S. Effects of light regime on extracellular polysaccharide production by *Porphyridium cruentum* cultureed in flat plate photobioreactors // 2nd International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering (ICBBE). 2008. P. 1488–1491.

Maadane A., Merghoub N., El Mernissi N. et al. Antimicrobial activity of marine microalgae isolated from Moroccan coastlines // J. Microbiol. Biotechnol. Food Sci. 2017. V. 6. P. 1257–1260.

Maldonado M.T., Hughes M.P., Rue E.L., Wells M.L. The effect of Fe and Cu on growth and domoic acid production by *Pseudo-nitzschia multiseries* and *Pseudo-nitzschia australis* // Limnol. Oceanogr. 2002. V. 47. P. 515–526.

Martins R.F., Ramos M.F., Herfindal L. et al. Antimicrobial and cytotoxic assessment of marine cyanobacteria – *Synechocystis* and *Synechococcus* // Mar. Drugs. 2008. V. 6. P. 1–11.

Mayer A.M., Rodríguez A.D., Taglialatela-Scafati O., Fusetani N. Marine pharmacology in 2009–2011: marine compounds with antibacterial, antidiabetic, antifungal, anti-inflammatory, antiprotozoal, antituberculosis, and antiviral activities; affecting the immune and nervous systems, and other miscellaneous mechanisms of action // Mar Drugs. 2011. V. 11. № 7. P. 2510–2573.

McGee D.M., Archer L., Smyth T.J. et al. Bioprospecting and LED-based spectral enhancement of antimicrobial activity of microalgae isolated from the west of Ireland // Algal Res. 2020. V. 45. Art. ID 101704. https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101704

Mendiola J.A., Torres C.F., Toré A. et al. Use of supercritical CO_2 to obtain extracts with antimicrobial activity from *Chaetoceros muelleri* microalga. A correlation with their lipidic content // Eur. Food Res. Technol. 2007. V. 224. P. 505–510.

Mishra B., Saxena A., Tiwari A. Biosynthesis of silver nanoparticles from marine diatoms *Chaetoceros* sp., *Skeletonema* sp., *Thalassiosira* sp., and their antibacterial study // Biotechnol. Rep. 2020. V. 28. Art. ID e00571. https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00571

Mohs R.C., Greig N.H. Drug discovery and development: Role of basic biological research // Alzheimers Dement. 2017. V. 3. P. 651–657.

Molina-Cárdenas C.A, Sánchez-Saavedra M.d.P., Lizárraga-Partida M.L. Inhibition of pathogenic *Vibrio* by the microalgae *Isochrysis galbana* // J. Appl. Phycol. 2014. V. 26. № 6. P. 2347–2355.

Montalvão S., Demirel Z., Devi P. et al. Large-scale bioprospecting of cyanobacteria, micro- and macroalgae from the Aegean Sea // New Biotechnol. 2016. V. 33. P. 399–406.

Najdenski H.M., Gigova L.G., Iliev I.I. et al. Antibacterial and antifungal activities of selected microalgae and cyanobacteria // Int. J. Food Sci. Technol. 2013. V. 48. P. 1533–1540.

Navarro F., Forján E., Vázquez M. et al. Antimicrobial activity of the acidophilic eukaryotic microalga *Coccomyxa onubensis* // Phycol. Res. 2017. V. 65. P. 38–43.

Nishimoto Y., Nomaguchi T., Mori Y. et al. The nutritional efficacy of *Chlorella* supplementation depends on the individual gut environment: a randomised control study // Front. Nutr. 2021. V. 8. Art. ID 648073. https://doi.org/10.3389/fnut.2021.648073

Noaman N.H., Fattah A., Khaleafa M., Zaky S.H. Factors affecting antimicrobial activity of *Synechococcus leopoliensis* // Microbiol. Res. 2004. V. 159. № 4. P. 395–402.

Ördög V., Stirk W.A., Lenobel R. et al. Screening microalgae for some potentially useful agricultural and pharmaceutical secondary metabolites // J. Appl. Phycol. 2004. V. 16. P. 309–314.

Osvik R.D., Ingebrigtsen R.A., Norrbin M.F. et al. Adding zooplankton to the OSMAC toolkit: effect of grazing stress on the metabolic profile and bioactivity of a diatom // Mar. Drugs. 2021. V. 19. Art. ID 87. https://doi.org/10.3390/md19020087

Pal D., Khozin-Goldberg I., Cohen Z., Boussiba S. The effect of light, salinity, and nitrogen availability on lipid production by *Nannochloropsis* sp. // Applied Microbiology and Biotechnology. 2011. P. 1429–1441.

Pane G., Cacciola G., Giacco E. et al. Assessment of the antimicrobial activity of algae extracts on bacteria responsible of external otitis // Mar. Drugs. 2015. V. 13. P. 6440–6452.

Prakash S., Sasikala S.L., Aldous V. et al. Isolation and identification of MDR–*Mycobacterium tuberculosis* and screening of partially characterised antimycobacterial compounds from chosen marine microalgae // Asian Pac. J. Trop. Biomed. 2010. V. 3. P. 655–661.

Pramanik A., Sundararaman M., Das S. et al. Isolation and characterization of cyanobacteria possessing antimicrobial activity from the Sundarbans, the world's largest tidal mangrove forest // J. Phycol. 2011. V. 47. P. 731–743.

Pratt R., Daniels T.C., Eiler J.J. et al. Chlorellin, an antibacterial substance from *Chlorella* // Science. 1944. V. 99. № 2574. P. 351–352.

Preisitsch M., Niedermeyer T.H.J., Heiden S.E. et al. Cylindrofridins A–C, linear cylindrocyclophane-related alkylresorcinols from the cyanobacterium *Cylindrospermum stagnale* // J. Nat. Prod. 2016. V. 79. P. 106–115.

Qin J.G., D'Antignana T., Zhang W., Franco C. Discovery of antimicrobial activities of a marine diatom *Thalassiosira rotula* // Afr. J. Microbiol. Res. 2013. V. 7. № 50. P. 5687–5696.

Quijano-Scheggia S., Barajas-Gonzalez M., Lim H.C. et al. The inhibitory effect of a non-yessotoxin-producing dinoflagellate, *Lingulodinium polyedrum* (Stein) Dodge, towards *Vibrio vulnificus* and *Staphylococcus aureus* // Rev. Biol. Trop. 2016. V. 64. № 2. P. 805–816.

Rajendran N., Karpanai S.B., Sobana P.P. et al. Phytochemicals, antimicrobial and antioxidant screening from five different marine microalgae // J. Chem. Pharm. Sci. 2014. V. 2. P. 78–85.

Raposo M.F.J., Morais R.M.S.C., Morais A.M.M.B. Bioactivity and applications of sulphated polysaccharides from marine microalgae // Mar. Drugs. 2013a. V. 11. P. 233–252.

Raposo M.F.J., Morais R.M.S.C., Morais A.M.M.B. Health applications of bioactive compounds from marine microalgae // Life Sci. 2013b. V. 93. P. 479–486.

Raposo M.F.J., Morais R.M.S., Morais A.M.M.B. Influence of sulphate on the composition and antibacterial and antiviral properties of the exopolysaccharide from *Porphyridium cruentum* // Life Sci. 2014. V. 101. № 1–2. P. 56–63.

Raveh A., Carmeli S. Antimicrobial ambiguines from the cyanobacterium *Fischerella* sp. collected in Israel // J. Nat. Prod. 2007. V. 70. P. 196–201.

Risjani Y., Mutmainnah N., Manurung P. et al. Exopolysaccharide from *Porphyridium cruentum* (*purpureum*) is not toxic and stimulates immune response against vibriosis: the assessment using zebrafish and white shrimp *Litopenaeus vannamei* // Mar. Drugs. 2021. V. 19. P. 133. https://doi.org/10.3390/md19030133

Sánchez-Saavedra M.d.P., Licea-Navarro A., Bernáldez-Sarabia J. Evaluation of the antibacterial activity of different species of phytoplankton // Rev. Biol. Mar. Oceanogr. 2010. V. 45. P. 531–536.

Sang M., Wang M., Liu J. et al. Effects of temperature, salinity, light intensity, and ph on the eicosapentaenoic acid production of *Pinguiococcus pyrenoidosus* // J. Ocean Univ. China. 2012. V. 11. P. 181–186.

Sethubathi G.V.B., Prabu V.A. Antibacterial activity of cyanobacterial species from Adirampattinam coast, southeast coast of Palk Bay // Current Res. J. Biol. Sci. 2010. V. 2. №. 1. P. 24–26.

Shalini A., Ali M.S., Anuradha V. et al. GCMS analysis and in vitro antibacterial and anti-inflammatory study on methanolic extract of *Thalassiosira weissflogii* // Biocatal. Agric. Biotechnol. 2019. V. 19. P. 101–148.

Sieburth J.M. Antibiotic properties of acrylic acid, a factor in the gastrointestinal antibiosis of polar marine animals // J. Bacteriol. 1961. V. 82. P. 72–79.

Srinivasakumar K.P., Rajashekhar M. In vitro studies on bactericidal activity and sensitivity pattern of isolated marine microalgae against selective human bacterial pathogens // Indian J. Sci. Technol. 2009. V. 2. № 8. P. 16–23.

Sundaramanickam A., Palanivel S., Shekharal S. et al. In vitro evaluation of antimicrobial activity of some selected cyanobacterial extracts against human pathogens // Int. J. Adv. Pharm., Biol. Chem. 2015. V. 4. P. 36–43.

Sushanth V.R., Rajashekhar M. Antioxidant and antimicrobial activities in the four species of marine microalgae isolated from Arabian Sea of Karnataka Coast // Indian J. Geo-Mar. Sci. 2015. V. 44. P. 69–75.

Takagi M., Karseno, Yoshida T. Effect of salt concentration on intracellular accumulation of lipids and triacylglyceride in marine microalgae *Dunaliella cells* // J. Biosci. Bioeng. 2006. V. 101. № 3. P. 223–226.

Velea S., Ilie L., Filipescu L. Optimization of *Porphyridium purpureum* culture growth using two variables experimental design: light and sodium bicarbonate // U. P. B. Sci. Bull. Ser. B. 2011. V. 73. P. 81–94.

Venkatesan R., Karthikayen R., Periyanayagi R. et al. Antibacterial activity of the marine diatom, *Rhizosolenia alata* (Brightwell, 1858) against human pathogens // Res. J. Microbiol. 2007. V. 2. P. 98–100.

Viso A.C., Pesando D., Baby C. Antibacterial and antifungal properties of some marine diatoms in culture // Bot. Mar. 1987. V. 30. P. 41–45.

Walter C.S., Mahesh R. Antibacterial and antifungal activities of some marine diatoms in culture // Indian J. Mar. Sci. 2000. V. 29. P. 238–242.

Wencheng L., Cho K., Yamasaki Y. et al. Photo-induced antibacterial activity of a porphyrin derivative isolated from the harmful dinoflagellate *Heterocapsa circularisquama* // Aquat. Toxicol. 2018. V. 201. P. 119–128.

Xu J., Zhang T., Yao J. et al. Recent advances in chemistry and bioactivity of marine cyanobacteria *Moorea* species // Eur. J. Med. Chem. 2020. V. 201. Art. ID 112473. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112473

You T., Barnett S. Effect of light quality on production of extracellular polysaccharides and growth rate of *Porphyridium cruentum* // Biochem. Engineer. J. 2004. V. 19. P. 251–258.

Zea-Obando C., Tunin-Ley A., Turquet J. et al. Anti-bacterial adhesion activity of tropical microalgae extracts // Molecules. 2018. V. 23. № 9. Art. ID 2180. https://doi.org/10.3390/molecules23092180

Zhu L., Zhang X., Ji L. et al. Changes of lipid content and fatty acid composition of *Schizochytrium limacinum* in response to different temperatures and salinities // Process Biochem. 2007. V. 42. P. 210–214.

Antimicrobial Activity of Marine Microalgae

A. V. Ognistaia[a, b], Zh. V. Markina[a], and T. Yu. Orlova[a]

[a]*A.V. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok 690041, Russia*

[b]*Far Eastern Federal University, Vladivostok 690091, Russia*

Marine microalgae from the divisions Chlorophyta, Bacillariophyta, Dinoflagellata, Haptophyta, Rhodophyta, and also cyanobacteria (Cyanophyta) are increasingly used for designing novel antibacterial agents. The present review summarizes information on the antimicrobial activity of these organisms. Particular attention is paid to the abiotic factors (light, temperature, salinity, pH of the environment, and nutrients) that enhance their bactericidal properties. The mechanisms of action and the methods for extraction of bioactive substances are analyzed. The species that have a potential to inhibit bacterial growth are noted. A number of microalgae preparations that have undergone clinical trials, those already used to treat bacterial infections, and also the species that can serve a basis for designing novel antibiotics are discussed.

Keywords: microalgae, antimicrobial activity, bioactive compounds, extracts

EDN: CPDYZY
БИОЛОГИЯ МОРЯ, 2022, том 48, № 4, с. 233–241

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

УДК 591.3

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ЭМБРИОНАЛЬНУЮ ДИАПАУЗУ РАКА-ОТШЕЛЬНИКА *PAGURUS PROXIMUS* KOMAI, 2000 (DECAPODA: PAGURIDAE) ИЗ ЗАЛИВА ПЕТРА ВЕЛИКОГО ЯПОНСКОГО МОРЯ В ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ

© 2022 г. Е. С. Корниенко*

Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского (ННЦМБ) ДВО РАН, Владивосток 690041, Россия

**e-mail: kornielena@mail.ru*

Поступила в редакцию 07.06.2021 г.
После доработки 16.03.2022 г.
Принята к публикации 24.03.2022 г.

В лабораторных условиях исследовано влияние температуры на обратимую остановку развития эмбрионов рака-отшельника *Pagurus proximus* Komai, 2000 из Амурского залива (зал. Петра Великого, Японское море), наблюдаемую в результате зимнего нереста. Показано, что в кладках самок, отнерестившихся в естественных условиях при температуре воды 5°C и ниже, повышение температуры воды до 14–16°C приводило к терминации эмбриональной диапаузы и синхронному возобновлению развития яиц независимо от того, когда изменялись температурные условия – в начале или в конце зимнего сезона размножения. У выловленных в декабре–апреле самок *P. proximus*, нерест которых проходил в лаборатории при температуре воды 14–16°C, яйца в кладках развивались без диапаузы. Из этого следует, что у *P. proximus* первичным сигналом для инициации и терминации диапаузы служит температура, которая влияет непосредственно на эмбрион. Полученные данные подтверждают, что эмбриональная диапауза у рака-отшельника *P. proximus* не является обязательной, а определяется условиями обитания, в первую очередь температурой окружающей среды. Рассмотрена возможность использования *P. proximus* в качестве модельного объекта для изучения механизмов инициации и терминации эмбриональной диапаузы у декапод.

Ключевые слова: раки-отшельники, температура, инкубационный период, эмбриональная диапауза, залив Петра Великого, Японское море

DOI: 10.31857/S0134347522040052

Обратимая остановка развития эмбрионов, или эмбриональная диапауза, отмечена у представителей всех типов беспозвоночных и позвоночных животных (Alekseev, Starobogatov, 1996; Nambu et al., 2004; Alekseev et al., 2006; Алексеев, 2010; Fenelon et al., 2014; Podrabsky, Hand, 2015; Hand et al., 2016; Wang et al., 2019, и др.). Этот феномен вызывает интерес биологов разных направлений: эмбриологов, эндокринологов, эволюционистов, систематиков и др. Согласно мнению большинства исследователей, значение эмбриональной диапаузы как эволюционной стратегии в том, что она позволяет разделить во времени оплодотворение и рождение (у морских беспозвоночных – выход личинок в планктон), тем самым обеспечивая постэмбриональное развитие потомства в наиболее благоприятных для выживания условиях (Hand, 1991; Alekseev, Starobogatov, 1996; Anger, 2001; Fenelon et al., 2014; Hansen, 2019).

Эмбриональная диапауза у Decapoda в большинстве случаев выявлена у видов, обитающих в холодных водах высоких широт. Данные о параметрах жизненного цикла морских беспозвоночных необходимы для разработки стратегий управления их промыслом, поэтому сведения о диапаузе, определяющей продолжительность инкубационного периода, в первую очередь были получены для таких промысловых или потенциально промысловых видов, как крабы-стригуны рода *Chionoecetes* (Brachyura: Oregoniidae) и крабоиды семейства Lithodidae (Anomura) (Jensen, Armstrong, 1989; Moriyasu, Lanteigne, 1998; Webb et al., 2007; Swiney, 2008; Duguid, Page, 2011).

Среди раков-отшельников эмбриональная диапауза обнаружена у *Pagurus nigrofascia* Komai, 1996 (Goshima et al., 1996; Mishima, Henmi, 2008), *P. proximus* (Kornienko et al., 2019), *P. brachiomastus* (Thallwitz, 1891) (Корниенко, Селин, 2019) и, вероятно, имеется у *P. alatus* (Fabricius, 1775), для ко-

торого характерен годовой репродуктивный цикл с длительным инкубационным периодом (11 мес.) и заметной синхронизацией развития эмбрионов во времени (Mura et al., 2006). Это позволяет предположить, что в эмбриогенезе *P. alatus* также присутствует обратимая остановка развития.

Многие виды планктонных ракообразных способны выдерживать экстремальные условия обитания благодаря производству покоящихся яиц, появление которых может быть вызвано увеличением плотности популяции, недостатком пищи, а также действием химических веществ, выделяемых сородичами, конкурентами или хищниками (см. обзоры: Gyllström, Hansson, 2004; Zadereev, Lopatina, 2019, и др.). Однако первичными сигналами для остановки и возобновления эмбрионального развития считаются изменения температуры и фотопериода (Baumgartner, Tarrant, 2017; Alekseev, Vinogradova, 2019, и др.), что подтверждено наблюдениями за жизненными циклами планктонеров в естественной среде и в экспериментальных условиях. Среди десятиногих ракообразных эмбриональная диапауза описана у довольно крупных животных, обитающих на больших глубинах в узком диапазоне низких температур, что затрудняет проведение экспериментальных работ. Немногочисленные лабораторные исследования по влиянию внешних факторов на продолжительность эмбрионального развития декапод были проведены при естественном освещении и незначительном изменении температуры обитания животных (Petersen, 1995; Reid al., 2007; Webb et al., 2007; Duguid, Page, 2011). Недавние исследования по влиянию температуры и фотопериода на терминацию эмбриональной диапаузы у литорального рака-отшельника *P. nigrofascia* показали, что на возобновление развития температура влияет в большей степени, чем фотопериод (Mishima et al., 2021).

Известно, что температура определяет продолжительность эмбрионального развития десятиногих ракообразных (Wear, 1974; Webb et al., 2007; Stevens et al., 2008, и др.), а при наличии эмбриональной диапаузы заметно увеличивается длительность инкубационного периода, максимальная продолжительность которого отмечена у литодид. У обитающего у берегов Огненной Земли *Paralomis granulosa* (Jacquinot, 1847) (см.: Lovrich, Vinuesa, 1993) и у *Lopholithodes foraminatus* (Stimpson, 1859) из Британской Колумбии, Канада (Duguid, Page, 2011) эмбриональное развитие длится 18–22 мес. и включает 10–12-месячный период обратимой остановки развития. Эмбриональная диапауза, описанная у раков-отшельников, продолжается не более 8 мес. (Goshima et al., 1996; Mishima, Henmi, 2008; Kornienko et al., 2019; Корниенко, Селин, 2019; Корниенко, 2020). Однако наличие эмбриональной диапаузы и ее продолжительность не являются видоспецифичными признаками и могут заметно различаться в разных популяциях одного и того же вида (Moriyasu, Lanteigne, 1998; Webb et al., 2007; Mishima, Henmi, 2008). При изучении эмбриогенеза краба *Hyas araneus* (Linnaeus, 1758) было показано, что продолжительность эмбрионального развития зависит от температуры инкубации на раннем этапе развития (Petersen, 1995). Кроме того, существует мнение, что диапаузу невозможно значительно сократить, просто повышая температуру воды, а наблюдаемое при этом уменьшение инкубационного периода происходит за счет ускорения развития эмбрионов после того, как период диапаузы пройден (Wear, 1974).

Понимание причин и механизмов возникновения и прекращения эмбриональной диапаузы имеет большое значение при изучении популяционной биологии видов и разработке стратегий управления промыслом десятиногих ракообразных, а также в исследованиях пищевых цепей, влияния глобального потепления на морские экосистемы, интродукции видов с балластными водами судов и т.д. Проблемы, связанные с эмбриональной диапаузой, не могут быть решены на основе какого-либо одного модельного объекта. Разные экспериментальные модели предлагают уникальные преимущества для изучения аспектов данного явления. Выбор рака-отшельника *P. proximus* в качестве модельного объекта определяется тем, что этот массовый прибрежный вид широко распространен в Японском море и обитает при температуре воды от –1.9 до 23°C (Komai et al., 2015; Селин и др., 2016). Репродуктивные характеристики *P. proximus* изучены у северной границы ареала в зал. Петра Великого (Kornienko et al., 2019) и у южных берегов о-ва Хоккайдо (Wada, Mima, 2003). Продолжительность светового дня в этих районах различается на несколько минут, однако на юге о-ва Хоккайдо умеренно теплый климат, а для зал. Петра Великого характерны низкая зимняя температура воды (до –1.9°C) и присутствие ледового покрова в декабре–марте (Лоция..., 1984; Лучин и др., 2005). Сроки нереста *P. proximus* в данных районах совпадают, но в зал. Петра Великого в зимних кладках у эмбрионов отмечена диапауза, а в зал. Хакодате в течение всего репродуктивного сезона эмбрионы развиваются без периода покоя. На основании этого можно предположить, что именно низкая температура воды инициирует эмбриональную диапаузу в развитии *P. proximus* в зал. Петра Великого и повышение температуры воды может послужить сигналом для возобновления развития эмбрионов.

Цель настоящей работы – в лабораторных условиях на примере рака-отшельника *P. proximus* из зал. Петра Великого Японского моря выяснить, как температура воды влияет на инициацию и терминацию эмбриональной диапаузы у десятиногих ракообразных.

Таблица 1. Даты отбора материала и половой состав выборок рака-отшельника *Pagurus proximus*

Дата	Самцы, экз.	Самки без яиц, экз.	Самки с яйцами, экз.
16.10.2020 г.	52	46	0
2.12.2020 г.	53	56	1
3.02.2021 г.	52	47	14
22.04.2021 г.	36	13	48

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Особей рака-отшельника *Pagurus proximus* отлавливали на глубине 5–6 м на небольшом удалении от берега (43°11′56″ N, 131°55′09″ E) в Амурском заливе – одном из заливов второго порядка зал. Петра Великого (Японское море). Пробы отбирали в октябре и декабре 2020 г., а также в феврале и марте 2021 г.; объем каждой выборки – около 100 животных (табл. 1). В дни отбора проб температура воды в заливе на поверхности составляла в октябре около 13°C, в декабре 4–6°C, в феврале минус 1.5°C (залив был покрыт льдом) и в конце апреля 4–5°C (https://seatemperature.ru/current/russia/amur-bay-sea-temperature).

В лаборатории рака-отшельника вынимали из раковины, аккуратно сломав ее. По строению плеоподов и наличию гонопоров на коксоподитах третьей (у самок) или пятой (у самцов) пары переоподов определяли пол животного и проверяли присутствие яиц на плеоподах самок. Затем раку-отшельнику предлагали несколько пустых раковин гастропод соответствующего размера. Раки-отшельники хорошо переносят повышение температуры воды (собственные наблюдения), поэтому без предварительной температурной адаптации животных переносили в аквариальную ННЦМБ ДВО РАН в аэрируемые аквариумы объемом 100 л, наполненные природной морской водой и оснащенные внешними биофильтрами. Температуру воды поддерживали на уровне 14–16°C. Самок, отложивших яйца в естественной среде, помещали в отдельный аквариум, самок без яиц содержали вместе с самцами. Два раза в неделю животных кормили замороженной зеленой водорослью *Ulva prolifera*, а также рыбой или мидиями из расчета 10–15 г водоросли и около 20 г животной пищи на 50 раков-отшельников. Один раз в неделю в аквариумах меняли около 3/4 объема воды.

Контрольная проверка состояния эмбрионов была ограничена, так как при извлечении из раковин животные могли получить несовместимые с жизнью повреждения или сбросить кладку. В первой выборке раков-отшельников осматривали через 10, 20, 30 и 55 сут. Во второй и третьей выборках через 14 сут после отлова животных проверяли, возобновилось ли развитие эмбрионов у самок, отложивших яйца в естественных условиях (группа 1), и оценивали степень развития яиц. Среди самок, содержавшихся вместе с самцами, для дальнейших наблюдений отбирали особей, отнерестившихся в лабораторных условиях (группа 2). Через 19–20 сут оценивали степень развития эмбрионов, а через 30–31 сут после отлова проверяли, завершилось ли их развитие. В четвертой выборке количество отнерестившихся в естественных условиях самок было достаточно большим, поэтому для уточнения длительности стадий развития эмбрионов просматривали по 3 самки через каждые трое суток. Чтобы определить точную дату выхода личинок, после достижения эмбрионами 5-й стадии развития (появление пигментации глаз) 20 самок рассадили в отдельные пластиковые емкости объемом 0.5 л с горловиной, затянутой мельничным газом. Емкости находились в аквариуме, в котором содержались остальные самки.

Основные стадии эмбрионального развития определяли визуально в соответствии с литературными данными: стадия 1 – начало дробления; 2 – развитое дробление и гаструляция (яйцо равномерно заполнено желтком); 3 – образование зародышевого диска (появляется зона без желтка); 4 – свободная от желтка зона занимает от 5 до 50–70%; 5 – появление пигментации глаз; 6 – глаза развитые, хорошо пигментированные, округлой формы; 7 – стадия вылупления (Turra, Leite, 2007).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В октябре все 46 отловленных самок *Pagurus proximus* были без яиц. Визуальное обследование самок показало, что степень развития гонад у особей сильно различалась и лишь у некоторых крупных самок гонады были заполнены темными ооцитами и хорошо видны через покровы плеона.

Прекопуляторные пары не были отмечены, но через 20 сут после отлова (5 ноября) была обнаружена одна недавно отнерестившаяся самка (яйца в кладке на стадии начала дробления), а спустя 30 сут яйца отложили еще 3 самки. Наблюдение продолжалось в течение 55 сут, за это время кладки появились у 7 из 46 самок; в одной кладке у эмбрионов сформировались хорошо пигментированные глаза округлой формы.

Среди животных, отловленных в начале декабря, равномерно заполненные желтком яйца были обнаружены у одной самки, которая погибла после извлечения из раковины. У остальных 56 самок яйца отсутствовали. Прекопуляторные пары появились в первые сутки после помещения самцов и самок в аквариум. Спустя 14 сут после отлова отнерестились 44 самки, 12 самок были без яиц. Осмотр самок, отнерестившихся в лабораторных условиях, показал, что степень развития яиц в кладках разных особей различалась: у одних самок яйца находились на стадии начала дробления, у других самок они были равномерно заполнены желтком; встречались кладки, в которых эмбрионы находились на стадии формирования зародышевого диска; максимальный прогресс развития ограничивался 4-й стадией, когда зона, свободная от желтка, занимала около 50% объема яйца. Через 30 сут после отлова были отмечены отдельные кладки с эмбрионами на завершающих стадиях развития с хорошо пигментированными глазами округлой формы.

В выборке от 3 февраля 14 самок несли на плеоподах яйца (группа 1), а 47 самок были без яиц. Через 14 сут в кладках всех самок из группы 1 сформировался зародышевый диск, свободное от желтка пространство занимало около 50% объема яйца. Через 22 сут после отлова у эмбрионов были видны глаза с пигментом овальной формы или в виде запятой. У одной самки в кладке наряду с развивающимися эмбрионами были отмечены погибшие яйца. Контрольная проверка 4 марта показала, что личинки вышли из яйцевых оболочек; все самки были без яиц, но с гонадами, заполненными крупными ооцитами.

Среди самок, содержавшихся вместе с самцами, через 14 сут отнерестилась 41 самка (группа 2), 4 самки оставались без яиц. Как и у отловленных в декабре особей, в кладках разных самок степень развития эмбрионов различалась. Через 30 сут у 26 самок инкубационный период близился к завершению, в глазах эмбрионов появился пигмент; в кладках некоторых самок у эмбрионов глаза полностью сформировались. У эмбрионов 11 самок свободное от желтка пространство занимало около 50% объема яйца. В кладках остальных самок эмбрионы находились на начальных стадиях развития.

В выборке от 22 апреля 48 самок отнерестились в естественных условиях и несли на плеоподах яйца, равномерно заполненные желтком (группа 1); 13 самок были без яиц. В первой группе самок через 3 сут после их помещения в теплую воду у эмбрионов начинал формироваться зародышевый диск. На 7-е сут появилась зона, свободная от желтка, которая постепенно увеличивалась и спустя 15 сут занимала более половины объема яйца. Глазной пигмент в виде запятой был отмечен на 18-е сут, у эмбрионов были различимы грудные придатки и плеон, а также был виден оранжевый пигмент на теле. На 23-и сут после возобновления развития глазной пигмент имел овальную или округлую форму; эмбрионы занимали весь объем яйца. Среди 20 самок, изолированных в отдельные емкости, 16 самок выпустили личинок на 24-е сут после начала эксперимента и 4 самки – на 25-е сут.

Среди самок, содержавшихся вместе с самцами, через 15 сут отнерестились 8 особей (группа 2). У двух самок яйца в кладках были равномерно заполнены желтком, т.е. находились на начальных стадиях развития; у остальных самок в яйцах присутствовала зона, свободная от желтка, которая в разных кладках занимала от 1/3 до половины объема, однако ни у одной самки развитие яиц не достигло стадии образования глазного пигмента. Три самки оставались без яиц.

ОБСУЖДЕНИЕ

У раков-отшельников, производящих несколько кладок в течение сезона размножения, интервал между кладками может быть и коротким, и длинным. В первом случае сразу после выхода личинок самка откладывает очередную порцию яиц без предварительной линьки, расходуя энергию на размножение без затрат на рост. Линька и увеличение размеров животного происходят во время длинного интервала (Wada et al., 2008). У *Pagurus proximus*, обитающего в зал. Петра Великого, интервал между выходом личинок в результате зимнего нереста и летним нерестом очень короткий. Длинный интервал начинается в конце августа после завершения летнего нереста и продолжается около трех месяцев (Kornienko et al., 2019). В нашем исследовании самки *P. proximus*, отловленные в середине октября, еще не были готовы к новому сезону размножения, поэтому, несмотря на то, что в лабораторных условиях поддерживалась комфортная для нереста температура, они начали откладывать яйца только в конце ноября–начале декабря, когда у самок

P. proximus в зал. Петра Великого завершается период роста и начинается зимний нерест.

Репродуктивные характеристики *P. proximus* исследованы в заливах Хакодате (о-в Хоккайдо, Япония) и Восток (зал. Петра Великого, Россия). У берегов Японии сезон размножения этого рака-отшельника длится более 6 мес. с января по июль при температуре воды от 6–7 до 19–21°C (https://world-weather.ru/pogoda/japan/hakodate/water/); за это время самки продуцируют несколько кладок (Wada, Mima, 2003). В российских водах *P. proximus* также производит не менее двух кладок за сезон размножения, который составляет около 9 мес. и длится с декабря по август. В обеих популяциях к началу нереста степень зрелости гонад у самок заметно различается, поэтому они откладывают яйца несинхронно. Однако в популяции у о-ва Хоккайдо развитие эмбрионов происходит без эмбриональной диапаузы (рис. 1а), а личинки выходят в планктон в разное время по мере завершения развития (Wada, Mima, 2003). В зал. Петра Великого зимний нерест у *P. proximus* начинается в декабре при температуре воды 5°C, продолжается в зимние месяцы, когда температура воды снижается до −1.6°C, и завершается в апреле. После вымета развитие яиц в кладках останавливается на стадии гаструлы и возобновляется после того, как вода прогреется выше 10°C (Kornienko et al., 2019). Продолжительность диапаузы у эмбрионов разных самок различается, так как количество яйценосных самок увеличивается постепенно: в начале декабря нерестятся единичные особи, но к началу мая 100% самок несут яйца на плеоподах. Следовательно, максимальная продолжительность периода покоя (около 5 мес.) наблюдается у эмбрионов самок, отнерестившихся в декабре. Благодаря эмбриональной диапаузе происходит синхронизация развития эмбрионов зимнего нереста, и в июне личинки массово выходят в планктон (Kornienko et al., 2019). К повторному (летнему) нересту (температура воды 15–22°C) самки приступают несинхронно по мере созревания гамет в гонадах; эмбрионы развиваются без диапаузы (рис. 1б), как и у раков-отшельников, обитающих у берегов Японии. Выход личинок летней когорты растянут до начала сентября (Корниенко, Корн, 2016; Kornienko et al., 2019). Таким образом, обитание у северной границы ареала в условиях низкой температуры воды не отменяет зимний нерест рака-отшельника *P. proximus* в зал. Петра Великого, а приводит к обратимой остановке развития эмбрионов в кладках и инициирует диапаузу. Подтверждением эффективности данной репродуктивной стратегии служит высокая численность *P. proximus* в этом регионе (Селин и др., 2016).

Исследуя влияние температуры на развитие нескольких видов декапод, Уир (Wear, 1974) пришел к выводу, что диапауза не может быть значительно укорочена при повышении температуры воды, а сокращение продолжительности инкубационного периода происходит за счет ускорения развития эмбрионов, вышедших из диапаузы. В экспериментах этот автор повышал температуру воды от 3 до 24°C постепенно, с постоянным шагом 3°C. Сразу повысив температуру до значений, при которых в природе развитие яиц происходит без диапаузы (во время летнего нереста), мы добились возобновления эмбрионального развития в кладках 100% самок, отнерестившихся в море при низкой температуре воды. Поскольку в зал. Петра Великого зимний нерест очень растянут, то в каждой выборке могли оказаться самки, как отложившие яйца вчера, так и отнерестившиеся в декабре. В кладках и тех, и других самок развитие эмбрионов остановилось на стадии ранней гаструлы, что не позволяет определить, когда именно были отложены яйца. Однако независимо от продолжительности диапаузы резкое повышение температуры приводило к ее терминации и возобновлению развития в кладках всех самок. По завершении развития личинки синхронно выходили в планктон.

Наблюдение за отловленными зимой самками без яиц, помещенными в теплую воду, показало, что они откладывали яйца, которые развивались без диапаузы. Известно, что спариванию пагурид предшествует прекопуляторное поведение, которое может длиться от нескольких часов до нескольких суток (Goshima et al., 1998; Wada et al., 1999; Contreras-Garduño, Córdoba-Aguilar, 2006, и др.). Обычно в течение 1 ч после копуляции самки раков-отшельников откладывают яйца (Turra, Leite, 2007). В наших экспериментах при совместном содержании самцов и самок первые прекопуляторные пары появлялись вскоре после помещения животных в аквариум, следовательно, некоторые самки могли отнереститься в первые сутки. Продолжительность эмбриональных стадий у разных видов раков-отшельников может различаться, однако на стадии, предшествующие появлению глазного пигмента, приходится почти половина времени развития эмбриона (Turra, Leite, 2007). В нашем эксперименте у самок, отнерестившихся в лабораторных условиях, через 14 сут при максимальном развитии эмбрионы достигали стадии, при которой свободная от желтка зона занимала около 50% объема, что указывает на отсутствие остановки развития на стадии гаструлы. Через 30 сут у отнерестившихся в лабораторных условиях самок были отмечены кладки, в которых эмбрионы завершили развитие: они за-

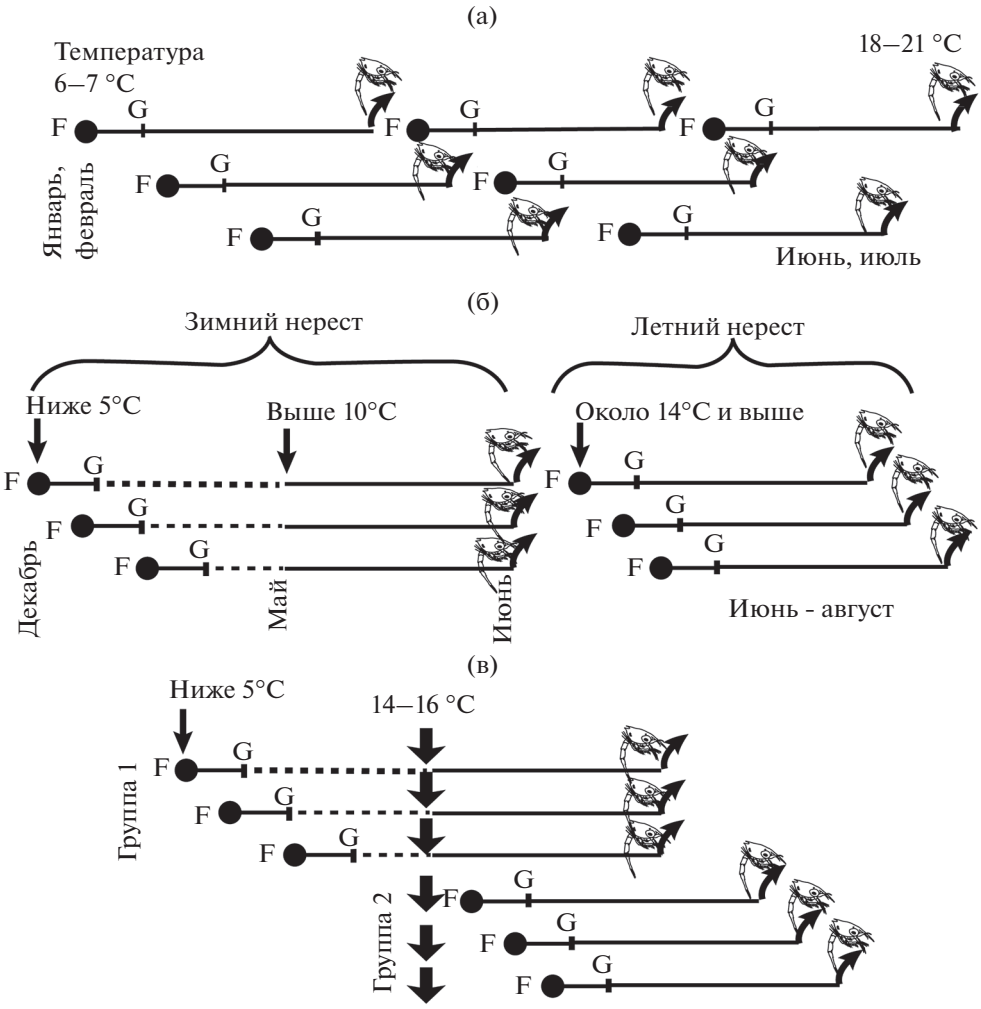

Рис. 1. Последовательность репродуктивных событий в популяциях рака-отшельника *Pagurus proximus* в зал. Хакодате, о-в Хоккайдо (а) и зал. Петра Великого (б), а также в лабораторных условиях при повышении температуры воды (в). В зал. Хакодате нерест в температурном диапазоне от 6 до 21°C, несинхронный; самки производят несколько кладок за сезон, эмбрионы развиваются без диапаузы, личинки выходят в планктон также несинхронно. В зал. Петра Великого нерест в температурном диапазоне от –1.9 до 22°C, несинхронный; в кладках самок, отнерестившихся зимой; в развитии эмбрионов присутствует диапауза, благодаря которой выход личинок синхронизируется; после повторного летнего нереста эмбрионы развиваются без диапаузы и личинки выходят в планктон несинхронно. В эксперименте в кладках самок, отнерестившихся в море (группа 1), после повышения температуры воды до 14–16°C развитие эмбрионов синхронно возобновлялось и личинки одновременно выходили из яйцевых оболочек; в лабораторных условиях самки нерестились неодновременно, эмбрионы развивались без диапаузы (группа 2), личинки выходили из оболочек несинхронно. Условные обозначения: F – копуляция и оплодотворение; G – стадия гаструлы; пунктиром обозначен период эмбриональной диапаузы (длительность стадий не масштабирована по времени).

нимали весь объем яйца и имели развитые хорошо пигментированные глаза округлой формы. Известно, что при температуре воды 16°C инкубационный период у *P. proximus* продолжается в среднем 30.8 сут (Wada, Mima, 2003). Совпадение продолжительности инкубационного периода также подтверждает, что в лаборатории при температуре 14–16°C развитие после нереста шло без диапаузы. Следовательно, необходимым условием для инициации эмбриональной диапаузы у *P. proximus* является низкая температура воды во время нереста.

Следует отметить, что обитание в районах с ярко выраженной сезонностью и периодическими низкими температурами не обязательно приводит к появлению эмбриональной диапаузы. В симпатрии с *P. proximus* обитает рак-отшельник *P. minutus* Hess, 1865, для которого зал. Петра Великого также является северной границей ареала (Komai et al., 2015), однако у этого вида нерестовый период длится с начала мая до начала сентября и диапауза в развитии отсутствует (Korn et al., 2018). Возможно, у *P. proximus* существует генетическая предрасположенность к обратимой оста-

новке развития при низкой температуре окружающей среды.

Таким образом, повышение температуры воды до 14–16°С служит достаточным стимулом для терминации эмбриональной диапаузы, возникающей у рака-отшельника *P. proximus* во время зимнего нереста. Развитие возобновляется независимо от того, в начале или в конце зимнего нерестового периода эмбрионы подверглись воздействию повышенной температуры. У отловленных в зимнее время самок, нерест которых проходил в лабораторных условиях при температуре воды 14–16°С, эмбрионы в кладках развивались без диапаузы. Очевидно, снижение температуры вызывает обратимую остановку развития, влияя на эмбрион непосредственно, а не через организм самки, и эмбриональная диапауза в развитии *P. proximus* не является обязательной, ее инициация, длительность и терминация зависят от температуры окружающей среды. Реакция на изменение температуры окружающей среды, а также небольшие размеры, массовость и неприхотливость рака-отшельника *P. proximus* могут сделать его удобным модельным объектом для изучения механизмов инициации и терминации эмбриональной диапаузы у декапод.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает благодарность сотрудникам водолазного отдела ННЦМБ ДВО РАН, проводившим отлов животных в трудных зимних условиях, а также сотрудникам аквариальной, обеспечившим длительное содержание животных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Алексеев В.Р. Физиологические и молекулярно-генетические основы механизма биологического покоя у водных беспозвоночных // Онтогенез. 2010. Т. 41. № 2. С. 83–93.

Корниенко Е.С. Репродуктивная стратегия раков-отшельников умеренных широт // Биол. моря. 2020. Т. 46. № 5. С. 304–314.

Корниенко Е.С., Корн О.М. Ключ к определению зоэа массовых видов раков-отшельников (Decapoda: Paguroidea) залива Восток Японского моря // Биол. моря. 2016. Т. 42. № 5. С. 368–374.

Корниенко Е.С., Селин Н.И. Популяционные и репродуктивные характеристики рака-отшельника *Pagurus brachiomastus* (Thallwitz, 1892) (Decapoda: Paguridae) из залива Петра Великого Японского моря // Биол. моря. 2019. Т. 45. № 3. С. 159–170.

Лоция северо-западного берега Японского моря от реки Туманная до мыса Белкина. Л.: Мин-во обороны СССР. Гл. упр. навигации и океаногр. 1984. 116 с.

Лучин В.А., Тихомирова Е.А., Круц А.А. Океанографический режим вод залива Петра Великого (Японское море) // Изв. ТИНРО. 2005. Т. 140. С. 130–169.

Селин Н.И., Корниенко Е.С., Корн О.М. Видовой состав и особенности распределения раков-отшельников (Decapoda: Paguroidea) в заливе Восток Японского моря // Биол. моря. 2016. Т. 42. № 6. С. 458–464.

Alekseev V.R., Hwang J.-S., Tseng M.-H. Diapause in aquatic invertebrates: what's known and what's next in research and medical application? // J. Mar. Sci. Technol. 2006. V. 14. P. 269–286.

Alekseev V.R., Starobogatov Y.I. Types of diapause in Crustacea: definitions, distribution, evolution // Hydrobiologia. 1996. V. 320. P. 15–26.

Alekseev V.R., Vinogradova E.B. Introduction to dormancy in aquatic invertebrates: mechanism of induction and termination, hormonal and molecular-genetic basis // Dormancy in aquatic organisms. Theory, human use and modeling. Monographiae Biologicae. V. 92. Springer Nature Switzerland AG. 2019. P. 7–41.

Anger K. The biology of decapod crustacean larvae. Crustacean issues. V. 14. 2001. Lisse, The Netherlands: A.A. Balkema. 417 p.

Baumgartner M.F., Tarrant A.M. The physiology and ecology of diapause in marine copepods // Annu. Rev. Mar. Sci. 2017. V. 9. P. 387–411.

Contreras-Garduño J., Córdoba-Aguilar A. Sexual selection in hermit crabs: a review and outlines of future research // J. Zool. 2006. V. 270. P. 595–605.

Duguid W.D.P., Page L.R. Biennial reproduction with embryonic diapause in *Lopholithodes foraminatus* (Anomura: Lithodidae) from British Columbia waters // Invertebr. Biol. 2011. V. 130. №1. P. 68–82.

Fenelon J.C., Banerjee A., Murphy B.D. Embryonic diapause: development on hold // Int. J. Dev. Biol. 2014. V. 58. P. 163–174.

Goshima S., Kawashima T., Wada S. Mate choice by males of the hermit crab *Pagurus filholi*: do males assess ripeness and/or fecundity of females? // Ecol. Res. 1998. V. 13. P. 151–161.

Goshima S., Wada S., Ohmori H. Reproductive biology of the hermit crab *Pagurus nigrofascia* (Anomura: Paguridae) // Crustacean Res. 1996. № 25. P. 86–92.

Gyllström M., Hansson L.A. Dormancy in freshwater zooplankton: Induction, termination and the importance of benthic-pelagic coupling // Aquat. Sci. 2004. V. 66. P. 274–295.

Hand S.C. Metabolic dormancy in aquatic invertebrates // Ad. Comp. Environ. Physiol. New York: Springer-Verlag. V. 8. 1991. P. 1–50.

Hand S.C., Denlinger D.L., Podrabsky J.E., Roy R. Mechanisms of animal diapause: recent developments from nematodes, crustaceans, insects, and fish // Am. J. Physiol.: Regul., Integr. Comp. Physiol. 2016. V. 310. P. R1193–R1211.

Hansen B.W. Copepod embryonic dormancy: "an egg is not just an egg" // Biol. Bull. 2019. V. 237. P. 145–169.

Jensen G.C., Armstrong D.A. Biennial reproductive cycle of blue king crab, *Paralithodes platypus*, at the Pribilof Islands, Alaska, and comparison to a congener, *P. camtschatica* // Can. J. Fish. Aquat. Sci. 1989. V. 46. P. 932–940.

Komai T., Saito Y., Myorin E. A new species of the hermit crab genus *Pagurus* Fabricius, 1775 (Crustacea: Decapoda: Anomura: Paguridae) from shallow coastal waters in Japan, with a checklist of the East Asian species of the genus // Zootaxa. 2015. V. 3918. P. 224–238.

Korn O.M., Kornienko E.S., Selin N.I. Population biology and reproductive characteristics of the hermit crab *Pagurus minutus* Hess, 1865 (Decapoda: Anomura: Paguridae) in the northern part of the species range (Peter the Great Bay, the Sea of Japan) // Mar. Biol. Res. 2018. V. 14. № 8. P. 846–855.

Kornienko E.S., Selin N.I., Korn O.M. Population and reproductive characteristics of the hermit crab *Pagurus proximus* Komai, 2000 (Decapoda: Anomura: Paguridae) in the northern part of the species range // J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 2019. V. 99. № 1. P. 101–109.

Lovrich G.A., Vinuesa J.H. Reproductive biology of the false southern king crab (*Paralomis granulosa*, Lithodidae) in the Beagle Channel, Argentina // Fish. Bull. 1993. V. 91. P. 664–675.

Mishima S., Henmi Y. Reproduction and embryonic diapause in the hermit crab *Pagurus nigrofascia* // Crustacean Res. 2008. V. 37. P. 26–34.

Mishima S., Kobayashi S., Yamada K., Henmi Y. The effects of photoperiod and temperature on embryonic diapause termination in the hermit crab *Pagurus nigrofascia* // Plankton Benthos Res. 2021. V. 16. № 2. P. 79–83.

Moriyasu M., Lanteigne C. Embryo development and reproductive cycle in the snow crab, *Chionoecetes opilio* (Crustacea: Majidae), in the southern Gulf of St. Lawrence, Canada // Can. J. Zool. 1998. V. 76. P. 2040–2048.

Mura M., Orrù F., Cau A. Reproduction strategy of the deep-sea hermit crabs *Pagurus alatus* and *Pagurus excavatus* of the Central-Western Mediterranean Sea // Hydrobiologia. 2006. V. 557. P. 51–57.

Nambu Z., Tanaka S., Nambu F. Influence of photoperiod and temperature on reproductive mode in the brine shrimp, *Artemia franciscana* // J. Exp. Zool. Part A. 2004. V. 301. P. 542–546.

Petersen S. The embryonic development of *Hyas araneus* L. (Decapoda, Majidae): effects of temperature // Sarsia. 1995. V. 80. P. 193–198.

Podrabsky J.E., Hand S.C. Physiological strategies during animal diapause: Lessons from brine shrimp and annual killifish // J. Exp. Biol. 2015. V. 218. P. 1897–1906.

Reid W.D.K., Watts J., Clarke S. et al. Egg development, hatching rhythm and moult patterns in *Paralomis spinosissima* (Decapoda: Anomura: Paguroidea: Lithodidae) from South Georgia waters (Southern Ocean) // Polar. Biol. 2007. V. 30. P. 1213–1218.

Stevens B.G., Swiney K.M., Buck L. Thermal effects on embryonic development and hatching for blue king crab *Paralithodes platypus* (Brandt, 1850) held in the laboratory, and a method for predicting dates of hatching // J. Shellfish Res. 2008. V. 27. № 5. P. 1255–1263.

Swiney K.M. Egg extrusion, embryo development, timing and duration of eclosion, and incubation period of primiparous and multiparous tanner crabs (*Chionoecetes bairdi*) // J. Crustacean Biol. 2008. V. 28. № 2. P. 334–341.

Turra A., Leite F.P.P. Embryonic development and duration of incubation period of tropical intertidal hermit crabs (Decapoda, Anomura) // Rev. Bras. Zool. 2007. V. 24. № 3. P. 677–686.

Wada S., Mima A. Reproductive characters of the hermit crab *Pagurus proximus* Komai, 2000 in Hakodate Bay, southern Hokkaido, Japan // Crustacean Res. 2003. № 32. P. 73–78.

Wada S., Oba T., Nakata K., Ito A. Factors affecting the interval between clutches in the hermit crab *Pagurus nigrivittatus* // Mar. Biol. 2008. V. 154. P. 501–507.

Wada S., Tanaka K., Goshima S. Precopulatory mate guarding in the hermit crab *Pagurus middendorffii* (Brandt) (Decapoda: Paguridae): effects of population parameters on male guarding duration // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 1999. V. 239. P. 289–298.

Wang Z., Asem A., Okazaki R.K., Sun S. The critical stage for inducing oviparity and embryonic diapause in parthenogenetic *Artemia* (Crustacea: Anostraca): an experimental study // J. Oceanol. Limnol. 2019. V. 37. № 5. P. 1669–1677.

Wear R.G. Incubation in British decapod Crustacea, and the effects of temperature on the rate and success of embryonic development // J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 1974. V. 54. P. 745–762.

Webb J.B., Eckert G.L., Shirley T.C., Tamone S.L. Changes in embryonic development and hatching in *Chionoecetes opilio* (snow crab) with variation in incubation temperature // Biol. Bull. 2007. V. 213. P. 67–75.

Zadereev E., Lopatina T.S. The role of chemical interactions in embryonic diapause induction in zooplankton // Dormancy in aquatic organisms. Theory, human use and modeling. Monographiae Biologicae. V. 92. Springer Nature Switzerland AG. 2019. P. 175–186.

A Laboratory Study of the Effect of Temperature on the Embryonic Diapause of the Hermit Crab *Pagurus proximus* Komai, 2000 (Decapoda: Paguridae) from Peter the Great Bay, Sea of Japan

E. S. Kornienko

A.V. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok 690041, Russia

Under laboratory conditions, the effect of temperature on the reversible arrest in embryo development, which occurs as a result of winter spawning, was studied in the hermit crab *Pagurus proximus* Komai, 2000 from Amurskiy Bay (Peter the Great Bay, Sea of Japan). In clutches of females that spawned under natural conditions at a water temperature of 5°C and below, an increase in water temperature to 14–16°C led to the termination of embryonic diapause and the synchronous resumption of egg development, regardless of whether the temperature conditions changed at the beginning or at the end of the winter breeding season. No embryonic diapause was observed in clutches of females of *P. proximus* that were captured in December–April and spawned in the laboratory at a water temperature of 14–16°C. From this it follows that the primary signal for diapause initiation and termination in *P. proximus* is temperature, which directly affects the embryo. The data obtained confirm that embryonic diapause of the hermit crab *P. proximus* is not obligate but induced by habitat conditions, primarily by ambient temperature. The possibility of using *P. proximus* as a model object for studying the mechanisms of embryonic diapause in decapods is considered.

Keywords: hermit crabs, temperature, incubation period, embryonic diapause, Peter the Great Bay, Sea of Japan

EDN: DJNJDW
БИОЛОГИЯ МОРЯ, 2022, том 48, № 4, с. 242–250

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

УДК [574.583-022.56:577.336.04](262.5)

КРУПНАЯ ФРАКЦИЯ СВЕТЯЩЕГОСЯ ПЛАНКТОНА В ПИКАХ БИОЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ В ЧЕРНОМ МОРЕ

© 2022 г. А. В. Темных[1], *, М. И. Силаков[1], А. В. Мельник[1]

[1]*Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН, Севастополь 299011, Россия*

**e-mail: atemnykh@yandex.ru*

Поступила в редакцию 27.07.2021 г.
После доработки 01.03.2022 г.
Принята к публикации 24.03.2022 г.

В Черном море в вертикальном профиле биолюминесценции летом наблюдали, как правило, один пик, который в ночное время располагался на глубине 5–30 м, а в дневное – на глубине 50–82 м. На двух из 14 станций в утренние и вечерние часы отмечены два пика, соответствующие этим же горизонтам. В верхнем пике зарегистрирована сильная положительная связь суммарной интенсивности биолюминесценции с обилием трех доминирующих видов: коэффициент корреляции R составил по +0.79 для видов *Noctiluca scintillans* и *Oikopleura dioica*, +0.70 для вида *Oithona similis* и +0.82 для общей численности светящегося планктона. В верхнем пике отмечена значимая отрицательная зависимость численности указанных видов от температуры; у *N. scintillans* выявлена значимая отрицательная связь с изменением солености ($R = -0.72$). Практически на всех станциях по численности доминировала динофлагеллята *N. scintillans.* В нижних пиках значимой корреляции между биолюминесценцией и численностью светящихся видов не обнаружено. Возможно, вклад в поле биолюминесценции вносят и другие зоопланктонные организмы, способность которых к свечению еще не исследована.

Ключевые слова: биолюминесценция, крупная фракция светящегося планктона, динофлагеллята *Noctiluca scintillans*, гребневики, светящиеся беспозвоночные, планктонное сообщество, Черное море

DOI: 10.31857/S0134347522040118

Биолюминесценция – проявление жизнедеятельности организмов в виде электромагнитного излучения в видимой области спектра. Способность к свечению обнаружена у таких представителей Мирового океана, как бактерии, динофлагелляты, простейшие, кишечнополостные, черви, моллюски, ракообразные, иглокожие и рыбы (Гительзон и др., 1992; Токарев, 2006; Haddock et al., 2010; Martini, Haddock, 2017).

Суммарный световой эффект, создаваемый совокупностью морских биолюминесцентов в толще воды, называется полем биолюминесценции (ПБ) (Токарев и др., 2000). Пространственной структуре этого поля присуща вертикальная стратификация, определяемая параметрами пелагического сообщества (видовым составом, трофической структурой и т.д.). Данные параметры, в свою очередь, зависят от гидрологического режима и гидродинамических характеристик водных масс (Токарев, 2006).

Исследованию мелкой фракции планктонных биолюминесцентов, в первую очередь одноклеточных водорослей, посвящены многие работы (Евстигнеев и др., 1993; Черепанов и др., 2007; Серикова и др., 2010, 2017; Брянцева и др., 2014; Полонский и др., 2018, и др.), в которых описаны виды одноклеточных водорослей, вносящие вклад в ПБ, и показана связь их распределения с пространственной структурой ПБ Черного моря. Однако в Черном море способность к свечению выявлена и у более крупных организмов, к ним относятся представители зоопланктона и динофлагеллята *Noctiluca scintillans* (Macartney) Kofoid & Swezy, 1921 (Dinophyceae: Noctilucales). Судя по энергетическим параметрам биолюминесцентного сигнала отдельных организмов (Токарев, 2006), этот вклад должен быть достаточно большим.

В списках светящихся крупных планктонных видов Черного моря имеются расхождения, так как одни таксоны были включены в список биолюминесцентов на основании собственных экспериментальных данных (Евстигнеев, Битюков, 1990; Евстигнеев и др., 1993), а другие – в результате анализа литературного материала по всему Мировому океану (Токарев, 2006).

В соответствии с данными Токарева (2006), к светящимся организмам мы относили ктенофор *Pleurobrachia pileus* (O.F. Müller, 1776), *Mnemiopsis leidyi* A. Agassiz, 1865 и *Beroe ovata* Bruguière, 1789,

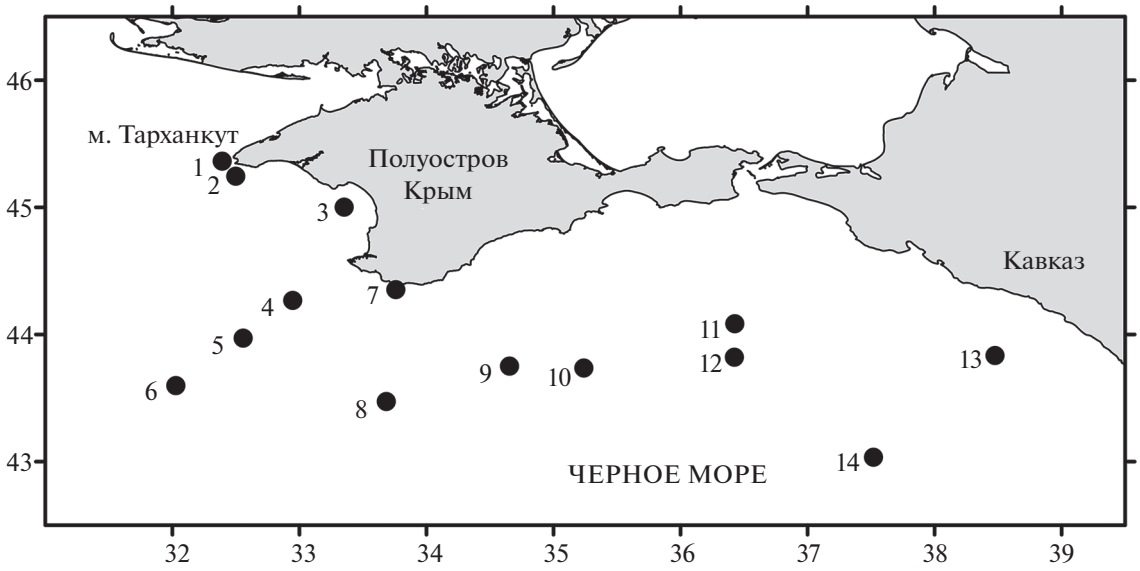

Рис. 1. Карта-схема расположения станций.

динофлагелляту *N. scintillans*, циклопоидную копеподу *Oithona similis* Claus, 1866, кладоцеру *Evadne spinifera* P.E. Müller, 1867 и аппендикулярию *Oikopleura* (*Vexillaria*) *dioica* Fol, 1872.

Цель настоящей работы – исследование состава и количественных характеристик крупной фракции планктонных биолюминесцентов в пиках поля биолюминесценции в Черном море в летние месяцы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материал собирали в северной части Черного моря на 14 станциях, выполненных в научном рейсе № 108 НИС “Профессор Водяницкий” в июле–начале августа 2019 г. (рис. 1). Для учета крупной фракции светящегося планктона в слоях, соответствующих пикам интенсивности биолюминесценции, использовали ловы сетью Джеди с ячеей сита 115 мкм и входным отверстием 0.1 м^2. Это позволило исправить недостаток методов учета биолюминесцентов, приведенных в работе Левина с соавторами (1975), когда пробу планктона брали батометром с одного горизонта и соотносили с интенсивностью биолюминесценции в слое определенной толщины, иногда достигающей нескольких десятков метров.

Таксономический состав и количественные характеристики биологического материала определяли по методике Яшнова (1934). К крупной фракции светящегося планктона относили биолюминесцентные организмы размером более 0.2 мм.

Данные о биолюминесценции, температуре и солености получили с помощью гидробиофизического комплекса “Сальпа-М” методом многократного зондирования (Гительзон и др., 1992; Токарев, 2006) от поверхности до глубины 120 м. Для уменьшения влияния астрономического фона в погружной части комплекса была встроена подвижная светоловушка, внутри которой располагалась теневая камера; датчик сигнала находился внутри рабочей камеры. При погружении комплекса поток воды проходил сквозь прибор. При минимальном сопротивлении набегающему потоку водной среды это обеспечивало ослабление астрономического фона в 2×10^7 раза и механическую стимуляцию светящихся гидробионтов. Дискретность синхронных измерений комплексом всех параметров при зондировании вниз со скоростью 1.2 м/с составляла 0.25 м, программное обеспечение интегрировало ее до 1 м. В результате обработки сигналов датчиков получены вертикальные профили биолюминесценции, температуры и солености; по этим параметрам была рассчитана условная плотность воды. Методика сбора и обработки информации с использованием комплекса “Сальпа-М” подробно описана ранее (Токарев и др., 2009). Данные по интенсивности биолюминесценции в пиках суммировали по вертикали, и исследовали взаимосвязь суммарного обилия планктонеров в этих пиках с кумулятивной интенсивностью биолюминесценции, а также с показателями температуры и солености в данных слоях.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Слои, в которых отмечены максимальные величины интегральной биолюминесценции, значительно превышающие величины в ниже- или вышележащих слоях, принято называть пиками

Таблица 1. Параметры температуры и солености в пиках биолюминесценции

№ станции	Расположение слоя	Глубина слоя, м	Температура, °C		Соленость, ‰	
			средняя	максимальная	средняя	максимальная
			Ночь			
1	Верхний	12–26	15.72	22.81	17.61	18.10
2	Верхний	5–20	15.49	23.43	17.65	18.09
3	Верхний	20–30	14.90	16.62	17.88	17.99
6	Верхний	5–15	18.29	22.85	17.56	17.80
7	Верхний	8.5–18	16.35	19.06	17.90	18.05
11	Верхний	10–20	20.29	25.15	17.75	18.31
14	Верхний	7–12	22.13	26.33	17.29	18.12
			День			
4.1	Верхний	12–18	16.95	23.21	17.38	17.89
4.2	Нижний	76–80	9.14	9.16	20.19	20.27
5	Нижний	72–82	9.04	9.07	19.96	20.10
8.1	Верхний	21–25	14.45	18.21	17.23	17.65
8.2	Нижний	68–75	9.04	9.07	19.83	19.99
9	Нижний	50–60	9.13	9.17	19.71	19.96
10	Нижний	50–55	9.16	9.19	19.71	19.80
12	Нижний	71–80	9.00	9.04	20.12	20.23
13	Нижний	68–75	9.04	9.06	19.99	20.08

биолюминесценции. В ночное время на исследованных станциях зарегистрирован один пик, располагавшийся в слое термоклина на глубине 5–30 м (верхний пик). В дневное время выявлен пик биолюминесценции на глубине 50–82 м (нижний пик). В утреннее и вечернее время на станциях 4 и 8 зарегистрировано по два пика биолюминесценции (верхние, обозначенные как 4.1 и 8.1, и нижние – 4.2 и 8.2). Толщина пиков по вертикали варьировала от 5 до 15 м. Значения температуры и солености в пиках биолюминесценции на станциях представлены в табл. 1.

На основании построенной по данным температуры и солености дендрограммы сходства (мера расстояния – Эвклидово расстояние) в слое пика биолюминесценции выявлено несколько групп станций с высокой степенью сходства (рис. 2). В первой группе станций разброс значений температуры и солености был крайне мал: средняя температура составляла 9.00–9.16°C, соленость – 19.71–20.19‰ (табл. 1). В эту группу попали станции с нижним пиком биолюминесценции. Вторая группа – это станции, между которыми в слоях пиков биолюминесценции наблюдался гораздо больший размах данных по средней температуре и солености: температура изменялась от 16.62 до 26.33°C, соленость – от 17.23 до 17.90‰. В эту группу объединились станции с верхним пиком биолюминесценции (рис. 2); станции 3, 7 и верхний пик станции 8 образовали подгруппу, которая характеризовалась максимальными значениями суммарной биолюминесценции по слою. Отмечено, что на этих трех станциях максимальная температура в слое пика биолюминесценции не превышала 19.06°C, в то время как на глубоководных станциях в восточной части Черного моря (станции 11 и 14) вода прогревалась до 25.15–26.33°C, соленость достигала 18.12–18.31‰ (табл. 1).

Суммарная численность светящегося планктона в пиках биолюминесценции колебалась от 45 экз./м^3, что соответствовало кумулятивной интенсивности биолюминесценции 1251/10^{12} Вт/(см^2 × л), до 10457 экз./м^3 для максимального зарегистрированного пика, кумулятивная интенсивность свечения в котором достигала 53146/10^{12} Вт/(см^2 × л). Биолюминесцентные виды составляли от 8 до 75% общей численности планктона. Основой крупной фракции светящегося планктона Черного моря в порядке убывания численности являлись *Noctiluca scintillans*, *Oithona similis* и *Oikopleura dioica*; остальные организмы были малочисленны (рис. 3).

Значения зарегистрированных ночью пиков интенсивности биолюминесценции были существенно выше показателей, полученных в дневное время. Это обычное явление, как и значительное различие в количестве светящихся планктонных организмов в слоях биолюминесценции в разное время суток. Максимальное оби-

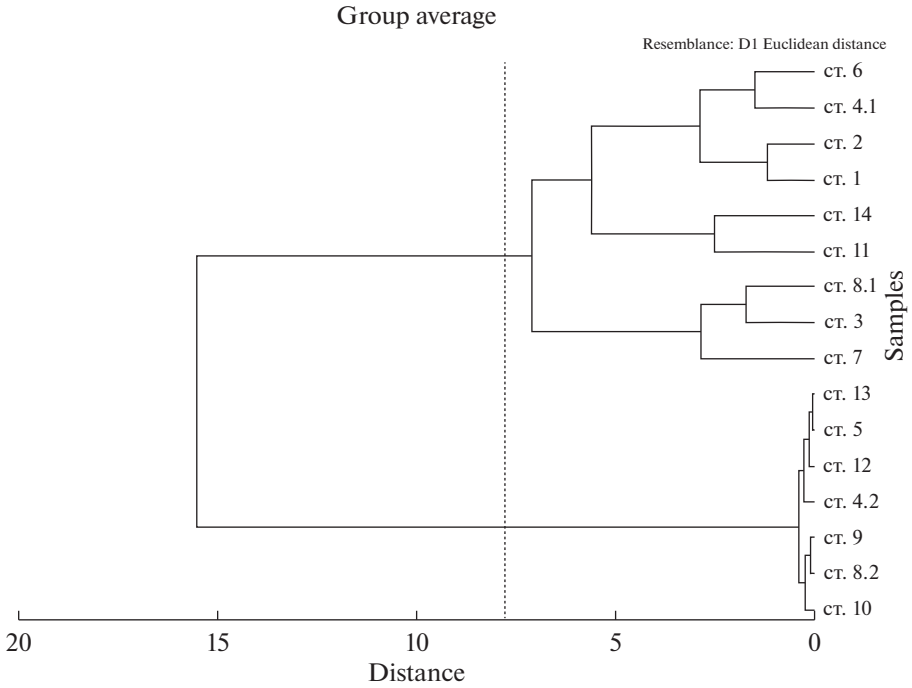

Рис. 2. Дендрограмма сходства станций по Эвклидову расстоянию на основании данных по температуре и солености.

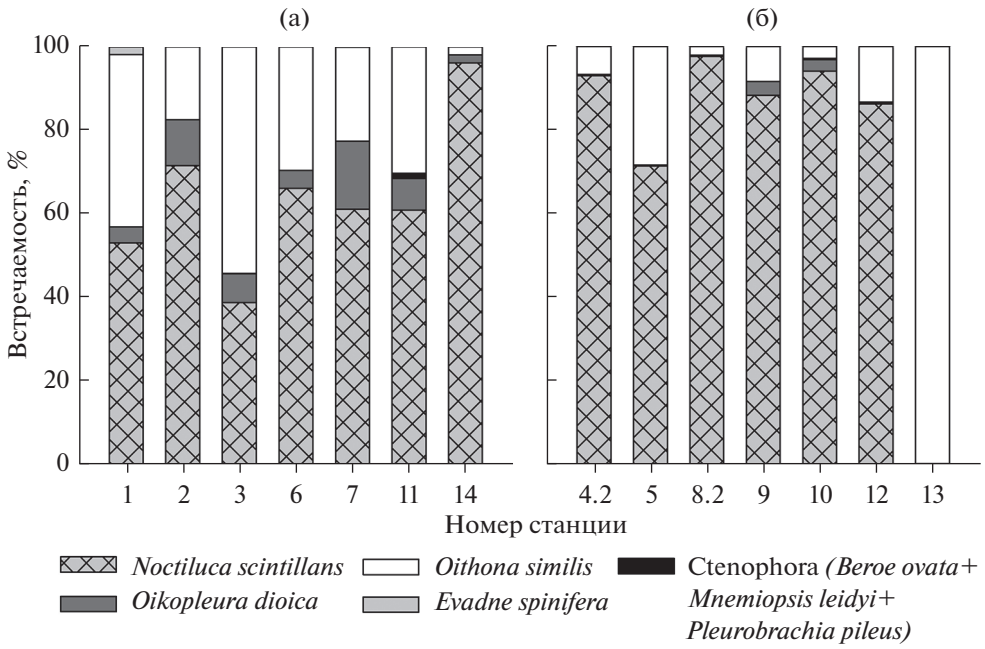

Рис. 3. Вклад отдельных видов в численность крупной фракции светящегося планктона Черного моря в верхнем ночном (а) и нижнем дневном (б) пиках биолюминесценции.

лие светящихся планктонных организмов было отмечено в ночное время, когда пики биолюминесценции наблюдались в верхних слоях воды на глубине 5–30 м. Максимальный пик интенсивности биолюминесценции 53 146/10^{12} Вт/(см^2 × л) отмечен на станции 3 в слое толщиной 10 м на глубине 20–30 м. На этой станции были зарегистрированы максимумы численности *O. similis*, *N. scintillans*, *O. dioica* и *Pleurobrachia pileus*.

Для верхнего пика была характерна сильная положительная связь суммарной интенсивности биолюминесценции с обилием трех доминирую-

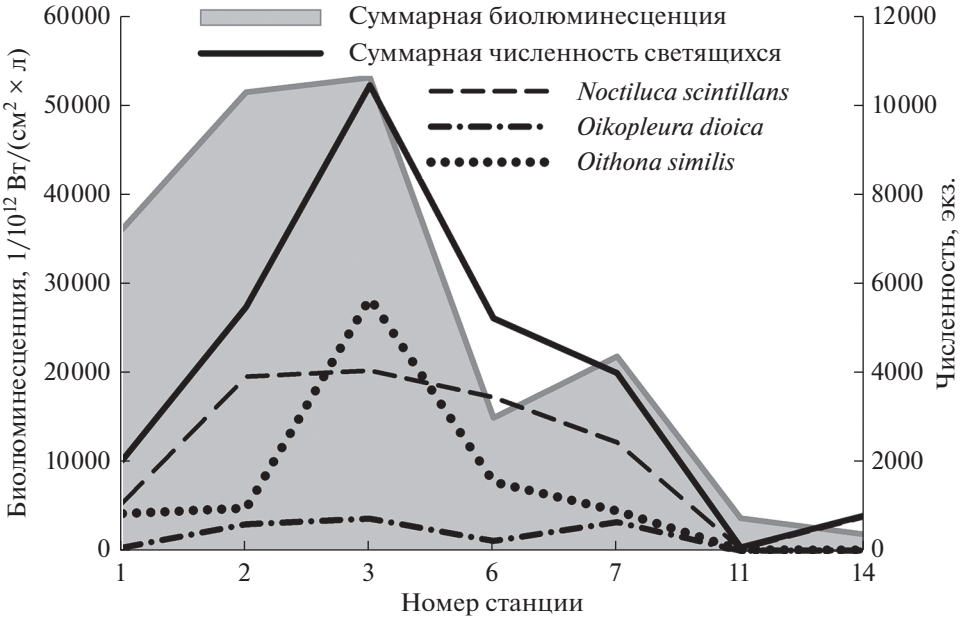

Рис. 4. Суммарное значение биолюминесцентного сигнала и численность светящихся видов в верхнем пике биолюминесценции.

щих видов: для *N. scintillans* и *O. dioica* $R = +0.79$, для *O. similis* $R = +0.70$ и для общей численности светящихся $R = +0.82$. По численности доминировала динофлагеллята *N. scintillans*, за исключением станции 3 в Каламитском заливе, где преобладала копепода *O. similis* (рис. 3а). Количество *N. scintillans* в верхних пиках достигало 4 тыс. экз./м^3; в нижних пиках численность составляла 200–300 экз./м^3, а зарегистрированный максимум не превышал 900 экз./м^3 (рис. 4). Значимая отрицательная зависимость численности *N. scintillans* от средней температуры воды и максимальных значений солености отмечена в ночном верхнем пике, она составляла –0.68 и –0.72 соответственно.

Копепода *O. similis* была наиболее многочисленной в верхних пиках с максимумом 5675 экз./м^3 на станции 3 у западного побережья Крыма напротив мыса Тарханкут; средняя по станциям численность *O. similis* в слое пика биолюминесценции составляла 676 экз./м^3. В популяции преобладали самки, их доля на некоторых станциях достигала 60%, и пятые копеподитные стадии (до 48%). Заметная, но не тесная, степень положительной связи численности с интенсивностью биолюминесценции (+0.66) может свидетельствовать о наличии биолюминесцентной реакции не у всех стадий копеподы, однако для однозначного вывода необходимы дальнейшие лабораторные исследования. Отмечена высокая степень отрицательной связи численности вида с максимальной температурой в пиках ($R = -0.83$).

Средняя по станциям численность *O. dioica* в слое пика биолюминесценции составляла 145 экз./м^3. В верхнем пике обилие аппендикулярии было на 2 порядка выше, чем в нижнем. Как и для копеподы *O. similis*, для *O. dioica* отмечена высокая степень отрицательной связи численности с максимальной температурой в пиках ($R = -0.83$).

Только 6 экз. гребневика *P. pileus* зарегистрированы на станции 3, на остальных станциях этот вид был обнаружен в единичных экземплярах или отсутствовал. Из других представителей ктенофор однажды встречен *Mnemiopsis leidyi*, гребневик *B. ovata* в пробах отсутствовал. Кладоцера *E. spinifera* в небольшом количестве обнаружена на трех станциях.

На всех станциях в нижнем и верхнем пиках с долей 72–97% в общей численности светящихся доминировала *N. scintillans*. Исключением была станция 13 у кавказского побережья, где светящиеся виды были представлены только *O. similis* (рис. 3б).

Выявлена сильная отрицательная зависимость между максимальными значениями амплитуды биолюминесценции в верхних пиках и средними значениями температуры в соответствующих слоях ($R = -0.91$). С повышением температуры величина максимальной интенсивности биолюминесценции уменьшалась. Для слоя нижнего пика выявлена высокая положительная связь амплитуды биолюминесценции с абиотическими параметрами; коэффициент корреляции интенсивности биолюминесценции с максимальными температурой и соленостью в этом пике составил соответ-

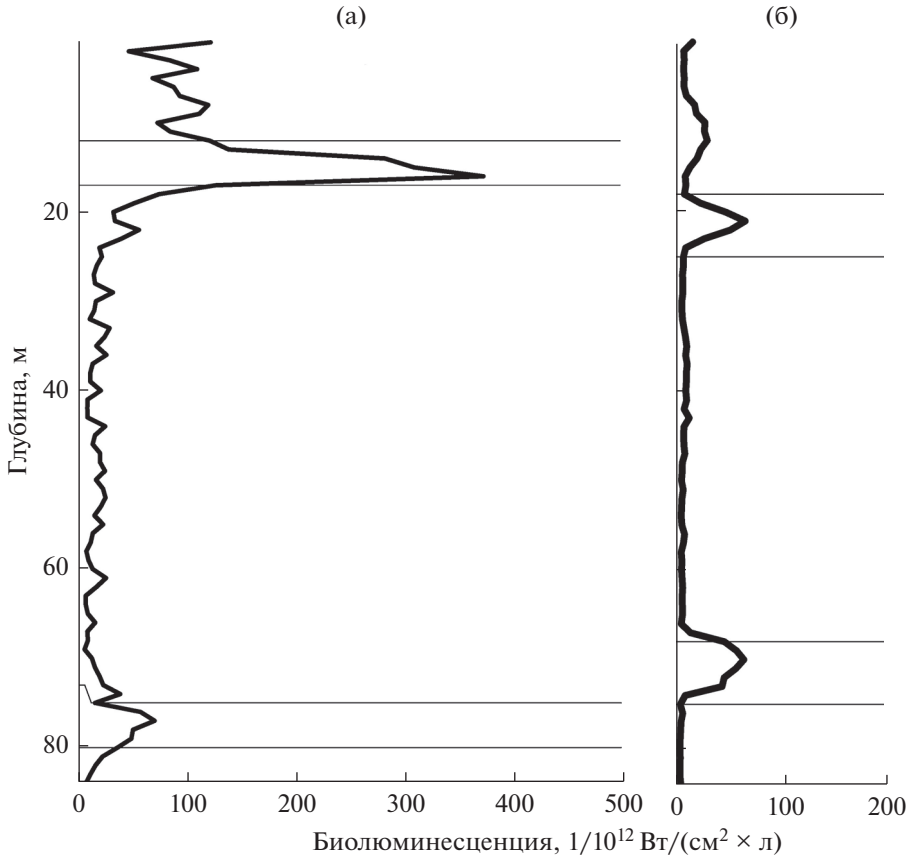

Рис. 5. Вертикальные профили биолюминесценции на станциях 4 (а) и 8 (б) с двумя пиками поля биолюминесценции.

ственно +0.81 и +0.83. Значимой корреляции в нижних пиках между биолюминесценций и численностью биолюминесцентных видов не обнаружено.

На станциях 4 и 8 в вечернее и утреннее время отмечено два биолюминесцентных пика (рис. 5). Интенсивность биолюминесценции в верхнем пике была значительно выше, чем на горизонтах, расположенных ниже. Вертикальный профиль нижнего пика более пологий в отличие от островершинного верхнего пика, поэтому кумулятивная интенсивность биолюминесценции нижнего пика может превосходить таковую верхнего пика и вносить больший вклад в общую интенсивность биолюминесценции по всему столбу воды, как это наблюдалось на станции 8.

На станциях с двумя пиками интенсивности биолюминесценции сохранялось доминирование *N. scintillans*. Вклад *O. similis* по численности в верхнем пике был на порядок больше, чем в нижнем, и составлял 21%. Численность *O. dioica* не превышала 2% (рис. 6).

ОБСУЖДЕНИЕ

Максимальные величины кумулятивной биолюминесценции наблюдались в ночное время в верхних пиках биолюминесценции на мелководных (глубина 30–90 м) станциях 1–3 и 7, расположенных вдоль юго-западного прибрежья п-ва Крым (рис. 1, 4). Данные величины на два порядка превышали значения, отмеченные для глубоководных районов в нижних пиках биолюминесценции в дневное время. Существенных значений кумулятивная биолюминесценция достигала также на станции 6, находившейся в западной халистазе. На исследуемых горизонтах на этих станциях наблюдалось наибольшее обилие представителей крупной фракции биолюминесцентного планктона (рис. 7).

На большинстве станций в течение суток по численности доминировала динофлагеллята *Noctiluca scintillans* (рис. 3), уровень биолюминесцентного сигнала которой может достигать $1/10^3$ мкВт/см^2 (Токарев и др., 2016). Очевидно, этот вид вносил значительный вклад в поле биолюминесценции крупной фракции планктонных видов. На доминирующую роль *N. scintillans* в свечении морской воды указывали и ранее (Токарев и др., 2000; Заворуев, 2002).

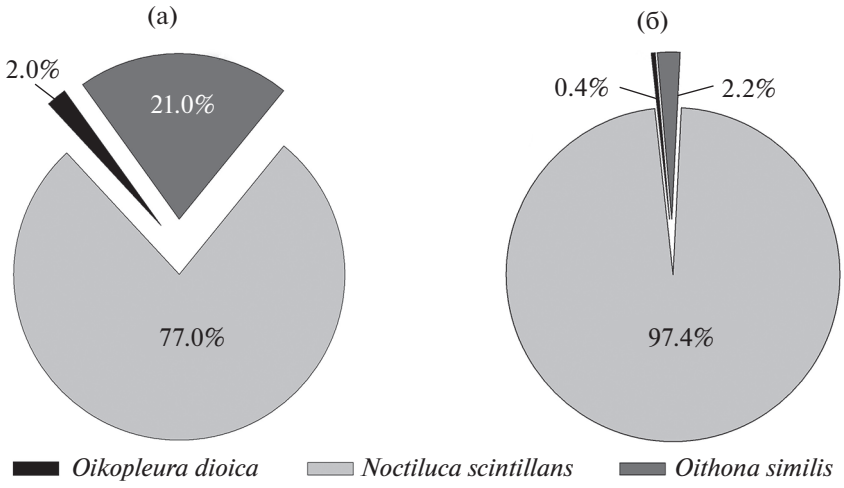

Рис. 6. Вклад трех массовых видов крупной фракции светящегося планктона в численность светящихся организмов на станции 8: а – верхний пик; б – нижний пик.

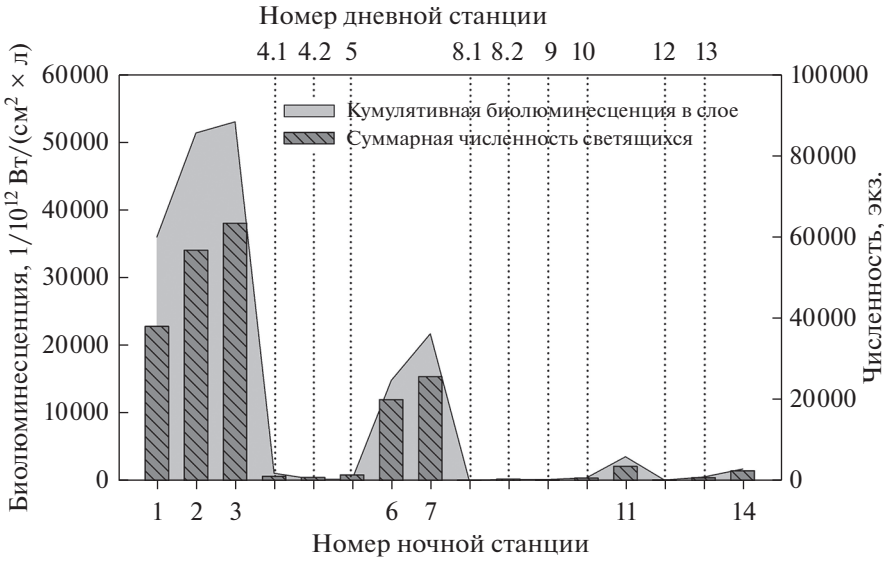

Рис. 7. Кумулятивный биолюминесцентный сигнал и численность светящихся видов крупой фракции биолюминесцентов в дневное и ночное время.

Биолюминесценция копеподы *Oithona similis* оценена в $4.6/10^2$ мкВт/см^2 (Евстигнеев, Битюков, 1990; Токарев и др., 2016), что на порядок больше, чем у *N. scintillans*. Следовательно, вклад *O. similis* в кумулятивную биолюминесценцию также может достигать больших величин. Согласно нашим данным, свечение зарегистрировано на станции 13, где крупная фракция светящегося планктона была представлена только *O. similis*. Однако на станциях 2 и 3, на которых величина кумулятивной биолюминесценции была высокой и почти одинаковой (рис. 7), численность этой копеподы различалась в 7 раз (839 и 5675 экз./м^3 соответственно). Прогрев воды на исследуемых горизонтах значительно различался (табл. 1), что также могло иметь значение для параметров свечения.

Аппендикулярия *Oikopleura dioica* в массовом количестве присутствовала в верхних пиках биолюминесценции ночью на прибрежных станциях 2, 3 и 7, где ее численность достигала 600–725 экз./м^3; на глубоководной станции 6 обилие этого вида составляло 225 экз./м^3, в остальных районах не превышало 15 экз./м^3. В литературе значения биолюминесцентного сигнала для *O. dioica* не приводятся, поэтому сложно судить о ее вкладе в кумулятивный биолюминесцентный сигнал.

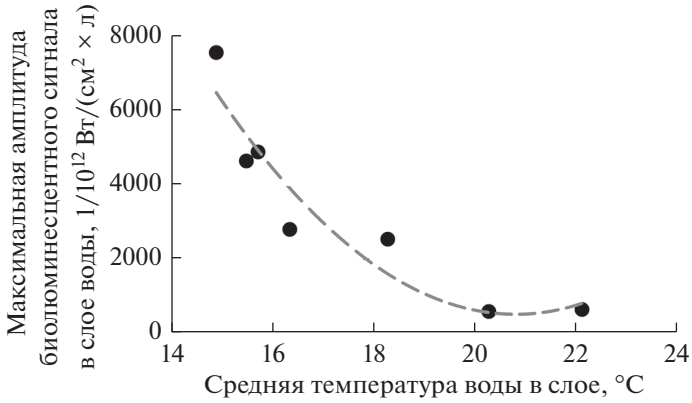

Рис. 8. Зависимость максимальных значений интенсивности поля биолюминесценции в верхнем пике от средней температуры воды в этом слое.

Ктенофоры, индивидуальная интенсивность биолюминесценции которых превышает таковую у других планктонных организмов и должна существенно влиять на суммарный сигнал, встречались лишь в единичных экземплярах; они отмечены на станциях с максимальной интенсивностью биолюминесценции и на станциях, где свечение было крайне мало.

Значимой корреляции кумулятивной биолюминесценции с температурой и соленостью воды не обнаружено, однако выявлена сильная обратная зависимость между максимальными значениями амплитуды интенсивности поля биолюминесценции в верхних пиках в ночное время и средними значениями температуры в соответствующем слое. Максимум амплитуды биолюминесцентного сигнала приходится на слои с температурой воды 15°C; при прогреве свыше 20°C значения амплитуды минимальны (рис. 8).

В настоящее время отсутствуют сведения о влиянии глубины, на которой были выловлены гидробионты, на долю высветившихся (т.е. проявивших реакцию в виде вспышки) в эксперименте особей разных видов. Однако не исключено, что этот параметр также может влиять на энергию свечения. Возможно, свой вклад в поле биолюминесценции вносят и другие зоопланктонные виды, способность к свечению которых еще не изучена. На современном этапе исследований сложно определить, какой вид вносит наибольший вклад в общую интенсивность биолюминесценции.

На основании полученных нами данных можно сделать следующие выводы:

1. В летнее время в Черном море крупная фракция биолюминесцентных планктонных организмов в пиках биолюминесценции чаще всего представлена динофлагеллятой *N. scintillans* и копеподой *O. similis*, причем в большинстве случаев доминировала *N. scintillans*, в остальных – *O. similis.*

2. Наибольшая численность светящихся видов обнаружена в прибрежных районах Крыма.

3. Доля крупной фракции планктонных биолюминесцентов составляла 8–75% от общей численности планктонных видов.

4. В верхнем пике биолюминесценции в ночное время отмечено большое количество светящихся видов и зарегистрированы высокие значения кумулятивной биолюминесценции. Обнаружена сильная корреляционная связь максимальной амплитуды биолюминесценции с температурой.

5. Для верхних пиков биолюминесценции в ночное время найдена значимая связь между температурой в слое пика и численностью трех видов крупной фракции биолюминесцентов: *N. scintillans*, *O. similis* и *O. dioica*.

6. Различие между величинами биолюминесценции в пиках обусловлено не только таксономическим составом светящихся видов, но и циркадным ритмом свечения.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания РАН № 121040600178-6 “Структурно-функциональная организация, продуктивность и устойчивость морских пелагических экосистем” и № 121041400077-1 “Функциональные, метаболические и токсикологические аспекты существования гидробионтов и их популяций в биотопах с различным физико-химическим режимом”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Брянцева Ю.В., Серикова И.М., Суслин В.В. Межгодовая изменчивость разнообразия динофлагеллят и поля биолюминесценции у берегов Севастополя // Экосистемы, их оптимизация и охрана. 2014. Вып. 11. С. 158–164.

Гительзон И.И., Левин Л.А., Утюшев Р.Н. и др. Биолюминесценция океана. СПб.: Гидрометеоиздат. 1992. 283 с.

Евстигнеев П.В., Битюков Э.П. Биолюминесценция морских копепод. Киев: Наукова думка. 1990. 144 с.

Евстигнеев П.В., Битюков Э.П., Околодков Ж.Е. Видовой состав и специфичность биолюминесценции водорослей Dynophyceae // Ботан. журн. 1993. Т. 78. С. 1–15.

Заворуев В.В. Суточные изменения биолюминесценции планктона Черного и Эгейского морей и корреляция свечения с концентрацией хлорофилла // Исследовано в России (электронный ресурс). МФТИ. http://zhurnal.mipt.rssi.ru. 2002. С. 2204–2214.

Левин Л.А., Утюшев Р.Н., Артемкин А.С. Распределение интенсивности биолюминесцентного поля в экваториальной части Тихого океана // Тр. Ин-та океанол. им. П.П. Ширшова. 1975. Т. 102. С. 94–101.

Полонский А.Б., Мельникова Е.Б., Серебренников А.Н. и др. Региональные особенности интенсивности свечения гидробионтов и концентрации хлорофилла *a* в водах Черного моря // Оптика атмосферы и океана. 2018. Т. 31. Вып. 4. С. 275–281.

Серикова И.М., Брянцева Ю.В., Токарев Ю.Н. и др. Особенности сезонной динамики поля биолюминесценции и биомассы светящихся динофлагеллят у Севастополя (2008–2009 гг.) // Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біол. 2010. № 3(44). С. 230–234.

Серикова И.М., Токарев Ю.Н., Евстигнеев В.П., Суслин В.В. Поле биолюминесценции как показатель агрегированности динофитовых водорослей в Черном море и его сезонная и межгодовая динамика // Оптика атмосферы и океана. Физика атмосферы. Материалы XXIII Международ. симпоз. Конференция С. Исследование атмосферы и океана оптическими методами. https://symp.iao.ru/ru/aoo/23/proceedings. 2017. С. С455–С458.

Токарев Ю.Н. Основы биофизической экологии гидробионтов. Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика. 2006. 342 с.

Токарев Ю.Н., Битюков Э.П., Василенко В.И. и др. Поле биолюминесценции – характерный показатель структуры планктонного сообщества Черного моря // Экол. моря. 2000. Вып. 53. С. 20–25.

Токарев Ю.Н., Василенко В.И., Жук В.Ф. Новый гидробиофизический комплекс для экспрессной оценки состояния прибрежных экосистем // Современные методы и средства океанологических исследований. Материалы XI Международ. научно-техн. конф. Ч. 3. 25–27 ноября 2009. М.: Изд-во РАН. 2009. С. 23–27.

Токарев Ю.Н., Евстигнеев П.В., Машукова О.В. Планктонные биолюминесценты Мирового океана: видовое разнообразие, характеристики светоизлучения в норме и при антропогенном воздействии. Симферополь: Нижняя Орианда. 2016. 340 с.

Черепанов О.А., Левин Л.А., Утюшев Р.Н. Связь биолюминесценции с биомассой и численностью светящегося и всего планктона. 2. Черное море // Мор. экол. журн. 2007. Т. 6. Вып. 3. С. 84–89.

Яшнов В.А. Инструкция по сбору и обработке планктона. М.: ВНИРО. 1934. 40 с.

Haddock S.H.D., Moline M.A., Case J.F. Bioluminescence in the sea // Annu. Rev. Mar. Sci. 2010 V. 2. № 1. P. 443–493.

Martini S., Haddock S.H.D. Quantification of bioluminescence from the surface to the deep sea demonstrates its predominance as an ecological trait // Sci. Rep. 2017. V. 7. 45750. https://doi.org/10.1038/srep45750

Large Luminous Plankton in Bioluminescence Peaks in the Black Sea

A. V. Temnykh[a], M. I. Silakov[a], and A. V. Melnik[a]

[a]*A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS, Sevastopol 299011, Russia*

In the Black Sea, one peak was usually observed in the vertical profile of bioluminescence: in summer, this peak was recorded at a depth of 5–30 m at night and at a depth of 50–82 m in the daytime. Two peaks corresponding to the same horizons were detected in the morning and in the evening at two of the fourteen studied stations. In the upper peak, a strong positive relationship was observed between the total intensity of bioluminescence and the abundance of the three dominant species: the correlation coefficient R was +0.79 for the plankton species *Noctiluca scintillans* and *Oikopleura dioica*, +0.70 for *Oithona similis*, and +0.82 for the total abundance of luminous plankton. In the upper peak, the abundance of these species showed a significant inverse dependence on temperature, while *N. scintillans* revealed a significant inverse relationship with changes in salinity ($R = -0.72$). The dinoflagellate *N. scintillans* dominated in abundance at almost all stations. No significant correlation between bioluminescence and abundance of luminous species was found in lower peaks. We suppose that other zooplankton organisms also contribute to the bioluminescence field, the ability of which to glow has not yet been studied.

Keywords: Bioluminescence, large luminous zooplankton, dinoflagellate *Noctiluca scintillans*, ctenophores, luminous invertebrates, plankton community, the Black Sea

EDN: NORLPI
БИОЛОГИЯ МОРЯ, 2022, том 48, № 4, с. 251–261

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

УДК 576.3

СОСТАВ И КИНЕТИКА КЛЕТОЧНОЙ ПОПУЛЯЦИИ ГЕМОЦИТОВ У ДВУСТВОРЧАТОГО МОЛЛЮСКА *CRENOMYTILUS GRAYANUS* (DUNKER, 1853)

© 2022 г. А. А. Анисимова[1], *, М. Н. Дягилева[1], О. А. Карушева[1], А. В. Синенко[1], И. А. Дмитриева[1]

[1]*Кафедра клеточной биологии и генетики, Институт Мирового океана, Дальневосточный федеральный университет, Владивосток 690922, Россия*

**e-mail: anisan77@mail.ru*

Поступила в редакцию 14.09.2021 г.
После доработки 24.02.2022 г.
Принята к публикации 24.03.2022 г.

По данным световой микроскопии гемоциты *Crenomytilus grayanus* представлены пятью морфотипами, типичными для двустворчатых моллюсков. В период половой инертности (конец октября) соотношение клеток было следующим: (1) гемобласты (0.2 ± 0.1%), (2) гиалиноциты (1.9 ± 0.3%), а также (3) базофильные (10.9 ± 1.4%), (4) нейтрофильные (13.3 ± 3.0%) и (5) эозинофильные (74.1 ± 2.9%) гранулоциты. Методом проточной цитометрии гемоциты в соответствии с их размером (FSC) и внутренней структурой (SSC) дифференцировались на четыре группы (R). Корреляционный анализ показал соответствие группы R1 гемобластам, R2 – гиалиноцитам, R4 – гранулоцитам и их эозинофильным формам; однако в летний сезон корреляции не выполнялись. Морфология гемоцитов и количественные отношения между их структурными типами свидетельствуют в пользу гистогенетической преемственности гиалиноцитов и гранулоцитов в соответствии с моделью гемопоэза Микса. Расположение клеток на гистограмме светорассеяния (FSC vs. SSC) отражает степень их зрелости, зависит от функционального статуса и может изменяться при нарушениях митотического цикла. Популяция гемоцитов *C. grayanus* характеризуется низкой скоростью обновления и доминированием эозинофильных гранулоцитов (до 99% от всех клеток в период половой инертности), что предполагает стратегию, направленную на длительное сохранение высокодифференцированных форм клеток, и согласуется с высокой продолжительностью жизни вида.

Ключевые слова: гемоциты, гемопоэз, гистогенез, *Crenomytilus grayanus*, Mytilidae, Bivalvia

DOI: 10.31857/S0134347522040027

В настоящее время во всем мире двустворчатых моллюсков добывают, культивируют, а также широко используют в качестве биоиндикаторов. Это определяет важность понимания их нормальной организации, адаптивных возможностей и особенностей реагирования на стресс. Одной из систем Bivalvia, подходящих для биоиндикации, является гемолимфа. Ее показатели весьма чувствительны к внешнему воздействию и рассматриваются как перспективные биомаркеры состояния морской среды (см. обзоры: Анисимова, 2013; Renault, 2015). Применяя гемолимфу в биомониторинге, следует учитывать биологию используемых организмов, в первую очередь видовые особенности гемограммы и саму гистогенетическую стратегию вида. Соотношение гранулярных и агранулярных форм клеток в гемолимфе значительно варьирует у разных представителей класса. Так, у митилид чаще отмечают преобладание гранулоцитов над гиалиноцитами (Carballal et al., 1998; Wootton et al., 2003; Galimany et al., 2008; Le Foll et al., 2010; Анисимова, 2012), а у устриц (Allam et al., 2002; Rebelo et al., 2013) и морских гребешков (Дзюба, Романова, 1992; Estrada et al., 2013), как правило, наблюдают обратное соотношение. Противоположные сведения опубликованы и для мидий (Andreyeva et al., 2019; Parrino et al., 2019), и для устриц (Sun et al., 2018), однако эти противоречия можно объяснить различием в физиологическим статусе или условиях обитания моллюсков (см. обзор: Анисимова, 2013). Причины видовых различий нечасто обсуждаются в литературе; более того, до сих пор отсутствует единое мнение о классификации и гистогенетических отношениях гемоцитов Bivalvia. Одна из схем предполагает, что гранулоциты и гиалиноциты – это отдельные линии, происходящие из разных камбиальных источников (Cheng, 1981), согласно другой схеме все клетки в популяции гемоцитов представляют единый морфофункциональный

тип на разных стадиях дифференцировки (Mix, 1976; Ottaviani et al., 1998; Rebelo et al., 2013). Не исключено, что различия в клеточном составе гемолимфы могут отражать особенности видовой стратегии поддержания тканевого гомеостаза. Последний обеспечивается быстрым обновлением клеточных популяций за счет стремительной пролиферации и апоптоза, как, например, в тканях короткоживущего морского гребешка *Aequipecten opercularis*, или длительной сохранностью уже имеющихся клеток за счет эффективной антиоксидантной защиты при низких темпах репродукции, как у двустворчатого моллюска *Arctica islandica* с продолжительностью жизни до 350 лет (Strahl, Abele, 2010). Разный подход к поддержанию целостности тканевых систем подразумевает и разный ответ на стрессовые воздействия, что необходимо принимать во внимание при использовании гемолимфы в качестве биомаркера.

Представители рода *Mytilus* признаны эталоном в биоиндикации состояния прибрежных вод и включены в глобальную программу мониторинга стойких загрязнений "Mussel Watch Program" (см. обзор: Farrington et al., 2016). На Дальнем Востоке России в качестве объекта морской токсикологии нередко используют мидию Грея *Crenomytilus grayanus* (Dunker, 1853). Такие реакции *C. grayanus* на загрязнение, как изменение микроэлементного (Кавун, Шулькин, 2005) и жирнокислотного (Ковалев и др., 2019) состава тканей или структурные перестройки нефроцитов, ответственных за выведение металлов (Kavun et al., 2020), уже исследованы, в то же время работы, выполненные на клетках гемолимфы этого моллюска, нам неизвестны. Мидия Грея – долгожитель, возраст отдельных особей может достигать 150 лет (Явнов, 2000), что делает данный объект удобной моделью для изучения гистогенезов у видов с разной продолжительностью жизни.

Настоящая работа посвящена анализу клеточного состава гемолимфы *C. grayanus* и оценке параметров митотического цикла у этого вида с целью поиска гистогенетических закономерностей в структуре и кинетике клеточной популяции гемоцитов. Данный подход позволяет охарактеризовать гемолимфу мидии Грея как тканевую систему и служит отправной точкой для оценки перспектив ее использования в биомониторинге.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Сбор моллюсков

Материалом для исследования послужила гемолимфа 80 особей двустворчатого моллюска *Crenomytilus grayanus*. Для выявления границ нормальной вариабельности параметров в исследование рандомно взяты три выборки, для которых общим фактором являлось отсутствие значимой антропогенной нагрузки на среду обитания моллюсков. Материал собирали трижды в разные годы и сезоны в трех фоновых акваториях Приморья (рис. 1). В 2018 г. в середине июля 10 моллюсков с длиной раковины от 30 до 110 мм были собраны в б. Киевка вблизи Морской биостанции "Заповедное", в 2019 г. в начале сентября 40 особей (26–121 мм) – в прол. Старка зал. Петра Великого и в 2020 г. в конце октября 30 особей (81–160 мм) – в прибрежной зоне о-ва Рейнеке зал. Петра Великого. Половая зрелость у мидии Грея наступает при длине раковины 60–70 мм (Явнов, 2000). Для характеристики клеточного состава гемолимфы выборки не были стандартизованы по размеру особей, чтобы охватить весь диапазон вариантов гемограммы. Стандартизацию применяли для расчета средних показателей и их сравнения в разные сезоны. Возрастную динамику клеточной популяции гемоцитов *C. grayanus* планируется рассмотреть в следующем сообщении. Нерест у мидии Грея происходит в июне–августе (Явнов, 2000), поэтому в летних выборках некоторые особи находились в состоянии выброса гамет. В октябрьской выборке признаков половой активности не наблюдали, а размер всех особей соответствовал возрасту половой зрелости. Эту выборку рассматривали как эталонную для определения видовой специфики гемограммы; результаты летних сборов использовали для оценки влияния нереста на параметры гемограммы.

Сбор и фиксация гемолимфы

У каждой особи отбирали 900 мкл гемолимфы из заднего мускула-аддуктора с помощью иглы 0.7 мм в диаметре и шприца объемом 1 мл, заранее содержащего 100 мкл 0.3 М раствора натриевой соли ЭДТА на фильтрованной морской воде для предотвращения агглютинации гемоцитов. Каждый образец делили на две части – 750 и 250 мкл. К первой части добавляли 750 мкл 8% забуференного раствора параформальдегида (ПФА) и перемешивали для получения клеточной суспензии с конечной концентрацией ПФА 4%. Ко второй части образца добавляли 700 мкл 96% этилового спирта и перемешивали для получения клеточной суспензии с конечной концентрацией этанола 70%.

Анализ клеточного состава гемолимфы

Небольшую каплю фиксированной в ПФА суспензии гемоцитов наносили на предметное стекло и выдерживали до высыхания. Затем препараты дважды отмывали от фиксатора 0.02 М фосфатно-буферным солевым раствором (ФБС), окрашивали 10% раствором красителя Романовского–Гимзы в течение 10 мин, просветляли в ксилоле, заключали в бальзам и фотографировали на камеру Axiocam 105 color в световой микро-

Рис. 1. Карта-схема районов сбора двустворчатого моллюска *Crenomytilus grayanus*. 1 – б. Киевка, 2 – прол. Старка, 3 – о-в Рейнеке.

скоп Axioscope (Carl Zeiss, Германия) с использованием объектива ×100. На микрофотографиях идентифицировали гемоциты разных морфотипов, определяли их процентное соотношение и измеряли диаметр клетки с помощью программы ZEN Blue. В анализ брали по 300 клеток от каждой особи, всего от 80 особей обработано 24 тыс. гемоцитов. Оставшийся объем фиксированных в ПФА клеточных суспензий исследовали методом проточной цитометрии. Анализ проводили на проточном цитометре Accuri C6 (Becton Dickinson, США) с использованием двухпараметрических гистограмм распределения событий по параметрам прямого (forward lights scattering – FSC) и бокового (side light scattering – SSC) светорассеяния, отражающих соответственно размер и внутреннюю структуру клеток. Агрегаты гемоцитов исключали из зоны анализа на двухпараметрических гистограммах распределения событий по FSC-A и FSC-H, где A – площадь под сигналом, а H – высота сигнала. Для каждой из 80 особей анализировали по 10 тыс. событий в области, соответствующей синглетам. Оценивали общее количество клеток, характер их распределения по размеру и структуре, количество клеток в отдельных размерно-структурных группах (регионах), а также определяли средние значения FSC и SSC для всей совокупности гемоцитов и для отдельных регионов.

Анализ митотического цикла гемоцитов

Для оценки содержания ДНК в ядрах гемоцитов использовали проточную цитометрию с внутренним гаплоидным стандартом. В анализ взяли по 20 мидий из двух выборок – осенней из района о-ва Рейнеке и летней из прол. Старка. Фиксированные этанолом суспензии гемоцитов смешивали с суспензией фиксированных сперматозоидов *C. grayanus*, дважды отмывали от фиксатора в 0.02 М ФБС путем центрифугирования в течение 10 мин при 1000 g, окрашивали 0.0001% раствором DAPI в течение 15 мин и анализировали на проточном цитометре CytoFLEX (Beckman Coulter). Анализ проводили для всей совокупности гемоцитов (10 тыс. событий в области синглетов) и для отдельных групп клеток (регионов), выделяемых по соотношению FSC и SSC.

Статистический анализ

Соответствие выборок нормальному распределению оценивали с помощью теста Колмогорова–Смирнова, достоверность различий – с помощью *U*-критерия Манна–Уитни. Для анализа взаимосвязей использовали ранговые корреляции Спирмена при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На основании световой микроскопии в гемолимфе мидии Грея выделены пять морфотипов клеток. К первому морфотипу отнесены гемобласты (малые агранулоциты) диаметром около 5 мкм с узким ободком цитоплазмы (рис. 2а); второй морфотип определен как гиалиноциты (большие агранулоциты) диаметром от 5 до 10 мкм с относительно однородной базофильной цитоплазмой (рис. 2б). Остальные три формы были представлены базофильными (рис. 2в), эозинофильными (рис. 2г, 2ж) и промежуточными нейтрофильными (рис. 2д, 2е) гранулоцитами диаметром от 7 до 14 мкм; в последних двух формах эозинофильные зоны часто располагались поляр-

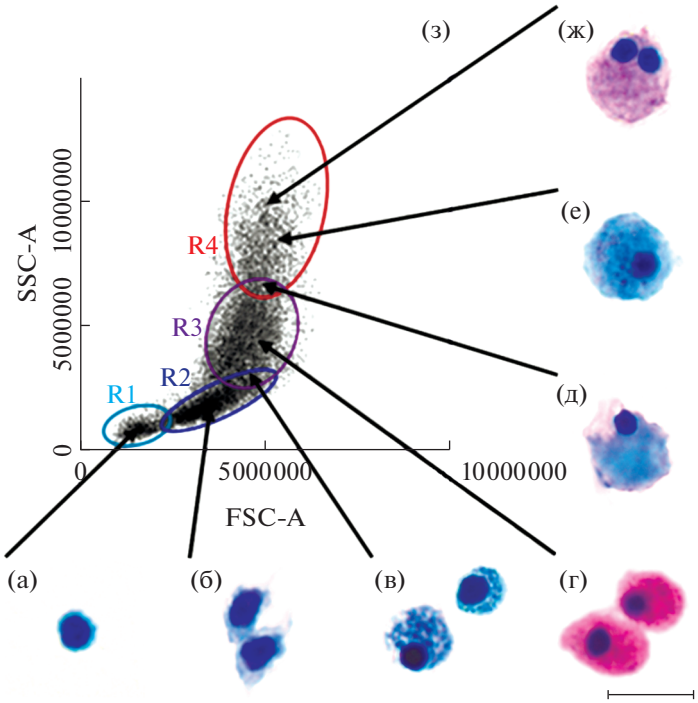

Рис. 2. Структурная характеристика гемоцитов *Crenomytilus grayanus*. а–е – морфотипы гемоцитов (световая микроскопия, окраска по Романовскому–Гимзе, масштабная линейка – 10 мкм): а – гемобласт; б – гиалиноциты; в – базофильные гранулоциты; г, ж – эозинофильные гранулоциты; д, е – нейтрофильные гранулоциты; з – распределение гемоцитов на размерно-морфологические группы (регионы, R) по значениям прямого (FSC-A) и бокового (SSC-A) светорассеяния (проточная цитометрия): R1 – мелкие агранулярные клетки, R2 – клетки среднего размера с умеренной гранулярностью, R3 – крупные гранулярные клетки, R4 – крупные гранулярные клетки с повышенным уровнем структурной сложности. A – площадь под сигналом.

но или со смещением на периферию (рис. 2д). Осенью размер клеток прогрессивно увеличивался в ряду гемобласт–гиалиноцит–гранулоцит без значимых различий между разными формами гранулоцитов. Летом по размеру различались только гемобласты, остальные клетки по этому признаку не различались из-за укрупнения гиалиноцитов и уменьшения эозинофильных гранулоцитов (табл. 1).

Самой малочисленной формой в гемолимфе были гемобласты; осенью их доля не превышала 2%, летом – 8% при медиане 0% в обоих случаях. Доля гранулоцитов варьировала от 90 до 100% осенью и от 40 до 100% летом (медианы 98 и 97% соответственно, $p = 0.03$); доля эозинофильных гранулоцитов изменялась от 46 до 99% осенью и от 27 до 97% летом (медианы 88 и 82 соответственно, $p = 0.008$) (табл. 1).

Анализ параметров прямого (FSC) и бокового (SSC) светорассеяния методом проточной цитометрии подтвердил размерно-морфологическую неоднородность клеточного состава гемолимфы *C. grayanus*. Чаще всего на гистограммах FSC vs SSC дифференцировались четыре группы событий: регионы R1, R2, R3 и R4 (рис. 2з). Между FSC и SSC установлена высокая прямая корреляция ($r = 0.97$). Оба параметра коррелировали с количеством событий в регионах: прямо – с R4 ($r = 0.81$ для FSC и $r = 0.80$ для SSC) и обратно – с R1, R2, R3 ($r = –0.54$, –0.57, –0.50 для FSC и $r = –0.44$, –0.73, –0.48 для SSC). Средний показатель SSC прямо зависел от числа гранулоцитов ($r = 0.42$) и обратно – от числа агранулоцитов ($r = –0.43$), как гемобластов ($r = –0.46$), так и гиалиноцитов ($r = –0.41$). В осенней выборке у о-ва Рейнеке обнаружены прямые корреляции между количеством событий в R1 и числом гемобластов ($r = 0.76$), R2 и гиалиноцитов ($r = 0.46$), R4 и эозинофильных гранулоцитов ($r = 0.62$). Количество событий в R2 также показало прямую корреляцию с общим числом агранулоцитов ($r = 0.45$) и обратную – с общим числом гранулоцитов ($r = –0.65$). Последнее прямо коррелировало с количеством событий в R4 ($r = 0.47$), которое, в свою очередь, показало обратную корреляцию с содержанием агранулоцитов ($r = –0.46$), как гемобластов ($r = –0.41$), так и гиалиноцитов ($r = –0.46$). Количество событий в R3 не коррелировало ни с одним из морфотипов; количество базофильных и нейтрофильных гранулоцитов также не обнаружило связи ни с одним из регионов. В этой же выборке обнаружена прямая корреляция между R1 и R2 ($r = 0.37$) и обратная – между ними и R4 ($r = –0.47$ и $r = –0.63$

Таблица 1. Характеристика клеточного состава гемолимфы двустворчатого моллюска *Crenomytilus grayanus*

Место и время сбора моллюсков	Морфотипы гемоцитов									
	гемобласты		гиалиноциты		базофильные гранулоциты		нейтрофильные гранулоциты		эозинофильные гранулоциты	
	мкм	%	мкм	%	мкм	%	мкм	%	мкм	%
О-в Рейнеке, осень	4.2 ± 0.2	0.2 ± 0.1	6.5 ± 0.3	1.9 ± 0.3	8.3 ± 0.4	10.9 ± 1.4	8.6 ± 0.2	13.3 ± 3.0	9.4 ± 0.3	74.1 ± 2.9
Прол. Старка, лето	5.3 ± 0.5	0.6 ± 0.3	8.3 ± 0.1	2.7 ± 0.7	8.5 ± 0.3	19.4 ± 2.7	8.2 ± 0.3	8.6 ± 2.9	8.4 ± 0.2	68.7 ± 3.1

Примечание. Для расчета средних значений использовали по 20 особей половозрелых мидий с длиной раковины 80–120 мм из двух наиболее репрезентативных выборок.

соответственно). Обратную связь с R4 показал и R3 ($r = -0.65$).

Корреляции выявлены и при сравнении числа клеток разных морфотипов. Количество гемобластов прямо соотносилось с таковым гиалиноцитов ($r = 0.45$), повторяя положительную связь между R1 и R2. При этом количество гиалиноцитов показало прямую корреляцию с таковым базофильных гранулоцитов ($r = 0.56$); последнее, в свою очередь, прямо коррелировало с общим числом клеток в гемолимфе ($r = 0.42$). Доля эозинофильных гранулоцитов, которая имела четкую положительную связь с общим количеством гранулоцитов ($r = 0.73$), находилась в обратной корреляции с содержанием гемобластов ($r = -0.44$), гиалиноцитов ($r = -0.72$) и базофильных гранулоцитов ($r = -0.97$), что соответствует отрицательной связи между числом событий в R4 и во всех остальных регионах. Обратная корреляция между числом агранулоцитов и гранулоцитов была абсолютной ($r = -1.00$).

Таким образом, согласно результатам корреляционного анализа, регион R1 соответствует гемобластам, R2 – гиалиноцитам, R4 – гранулоцитам и их доминирующей эозинофильной форме. Регион R3 является смешанным и сочетает в себе гранулоциты разной аффинности (рис. 2). По мере изменения соотношения клеток в пользу эозинофильных гранулоцитов (рис. 3а1, 3а2) плотность событий действительно смещалась из R3 в R4 (рис. 3б1, 3б2), однако реальное число эозинофильных гранулоцитов иногда существенно превышало количество событий в R4 (рис. 3а3, 3б3), а высокая плотность событий в регионах R1 и R2 не соотносилась с низким содержанием гемобластов и гиалиноцитов (рис. 3а, 3б). В некоторых случаях регион R4 выглядел более протяженным за счет возрастания SSC (рис. 3б3). При этом часто прослеживалась зависимость расположения гемоцитов на гистограммах FSC vs SSC от состояния их ядерного аппарата и содержания ДНК (рис. 3в, 4). В гемолимфе таких мидий в массовом количестве встречались клетки с удвоенными ядрами обычно разного размера, чаще всего это были эозинофильные гранулоциты (рис. 2ж). Проточная ДНК-цитометрия гемоцитов не выявила картин, соответствующих нормальному митотическому циклу, в том числе в регионе R1 (рис. 4а1). Однако у особей с повышенным содержанием двуядерных гемоцитов (9 случаев из 20 у особей из прибрежья о-ва Рейнеке и 4 случая из 20 у моллюсков из прол. Старка) наблюдались мультимодальные распределения клеток по содержанию ДНК (как всех, так и в регионе R1), когда диплоидному пику сопуствовали дополнительные моды с содержанием ДНК менее и более 2*c* (рис. 4а2), вплоть до триплоидных значений (рис. 3в3, рис. 4а3). Выделение клеток с определенным содержанием ДНК из общей совокупности гемоцитов позволило определить их расположение на гистограммах FSC vs SSC (рис. 4б, 4в, 4г). Расположение диплоидных клеток соответствовало типичной позиции регионов R1, R2, R3 и R4 при относительно невысоких для региона R4 значениях SSC (рис. 4б). Клетки с содержанием ДНК менее 2*c* имели заниженные показатели светорассеяния, основная масса клеток располагалась в зоне R2 (рис. 4в). Гипердиплоидные и полиплоидные гемоциты имели завышенные показатели FSC и SSC и располагались в области R3 и R4 (рис. 4г). В этом случае регион R4 часто характеризовался более высокими значениями SSC (рис. 3б3), что согласуется с наличием двуядерных клеток в этой категории гемоцитов.

В летних выборках, как и в осенней, общие показатели FSC и SSC прямо коррелировали друг с другом ($r = 0.92$) и с количеством событий в регионе R4 ($r = 0.80$ и $r = 0.84$ соответственно), обратно – с количеством событий в R1 ($r = -0.71$ и $r = -0.78$ соответственно); регионы R1 и R2 также находились в обратных отношениях с R4 ($r = -0.61$ и $r = -0.50$ соответственно). Однако значимых корреляций между количеством событий в регионах и числом клеток ожидаемых морфотипов выявить не удалось. В частности, из-за резкого несовпадения данных световой микроскопии и проточной цитометрии в образцах, засоренных спермой, не обнаружена связь между количе-

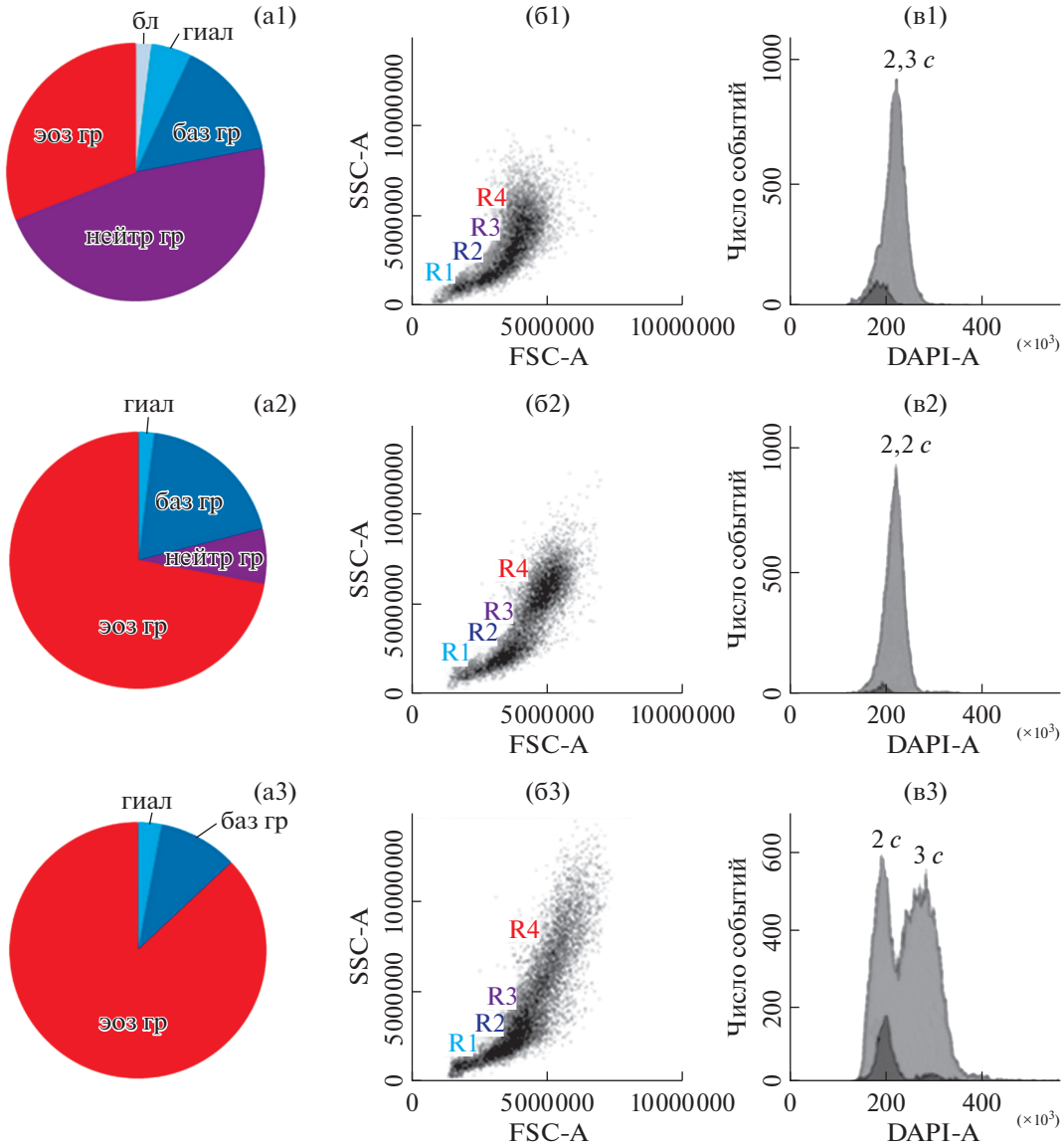

Рис. 3. Сопоставление параметров гемограммы *Crenomytilus grayanus*, определенных методами световой микроскопии (а) и проточной цитометрии (б), с учетом содержания ДНК в ядрах гемоцитов (в). 1–3 – примеры индивидуальных распределений гемоцитов по исследованным параметрам; приведены данные по трем особям: 1 – половозрелая особь из летней выборки, прол. Старка; 2, 3 – половозрелые особи из осенней выборки, о-в Рейнеке; а – распределение клеток по морфотипам: бл – гемобласты, гиал – гиалиноциты, баз гр – базофильные гранулоциты, нейтр гр – нейтрофильные гранулоциты, эоз гр – эозинофильные гранулоциты; б – распределение клеток по регионам (R1, R2, R3, R4) в соответствии со значениями прямого (FSC-A) и бокового (SSC-A) светорассеяния; в – распределение клеток по содержанию ДНК, *c* (DAPI-A). A – площадь под сигналом.

ством событий в R1 и содержанием гемобластов, а у мидий из прол. Старка количество событий в R2 прямо коррелировало с содержанием гранулоцитов ($r = 0.40$) и обратно – с содержанием агранулоцитов ($r = -0.38$).

ОБСУЖДЕНИЕ

В полном соответствии с общепринятой морфологической классификацией гемоцитов Bivalvia (см. обзоры: Mix, 1976; Cheng, 1981; Sminia, van der Knaap, 1987; Анисимова, 2013) и, в частности, митилид (Carballal et al., 1997, 1998; Ottaviani et al., 1998; Wootton et al., 2003; Galimany et al., 2008; Le Foll et al., 2010; Анисимова, 2012; Andreyeva et al., 2019; Parrino et al., 2019), клеточный состав гемолимфы мидии Грея *Crenomytilus grayanus* по данным световой микроскопии представлен гемобластами, гиалиноцитами, базофильными, нейтрофильными и эозинофильными гранулоцитами. Согласно предложенной Миксом (Mix, 1976) модели гемопо-

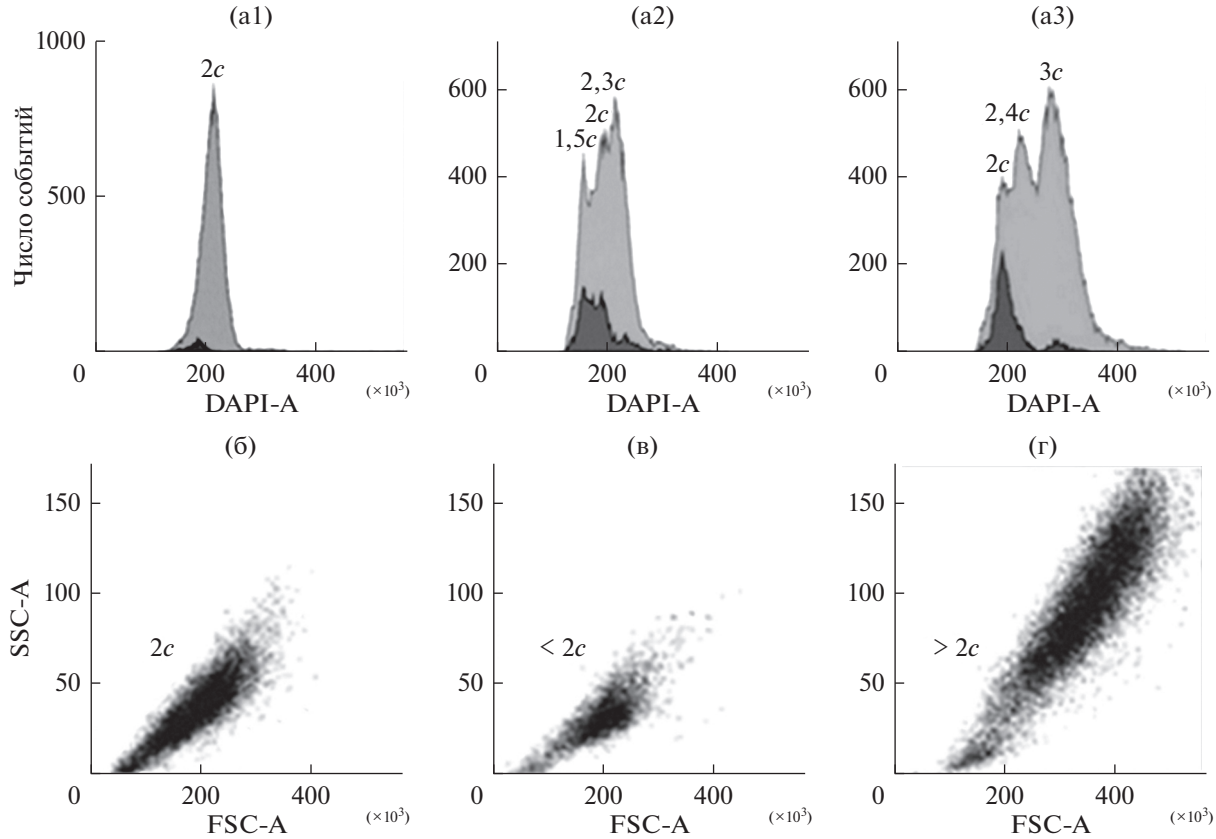

Рис. 4. Оценка влияния содержания ДНК на характер распределения гемоцитов *Crenomytilus grayanus* по значениям прямого и бокового светорассеяния. а1–а3 – примеры индивидуальных распределений гемоцитов по содержанию ДНК, *c* (DAPI-A) (приведены данные по трем особям из осенней выборки, о-в Рейнеке, светло-серым цветом показаны все гемоциты, темно-серым цветом – только клетки региона R1); б–г – закономерности распределения гемоцитов с разным содержанием ДНК, *c* (DAPI-A) по значениям прямого (FSC-A) и бокового (SSC-A) светорассеяния (приведены данные по особи № 2). А – площадь под сигналом.

эза, перечисленные в этом порядке структурные типы гемоцитов формируют единый гистогенетический ряд, а их морфология отражает последовательность событий в ходе созревания клеток фагоцитарного типа. Гиалиноциты Bivalvia имеют признаки молодой клеточной формы – крупное ядро и хорошо развитый аппарат белкового синтеза (ШЭР и комплекс Гольджи), в то время как у гранулоцитов выражены черты терминальной дифференцировки – компактное ядро, обилие лизосом и секреторных гранул (Sminia, van de Knaap, 1987; Rebelo et al., 2013). В функциональном смысле гранулоциты также проявляют себя как зрелые клетки, демонстрируя максимально высокий уровень иммунологической активности (Carballal et al., 1997; Wootton et al., 2003; García-García et al., 2008; Le Foll et al., 2010; Andreyeva et al., 2019; Sendra et al., 2020). Часто в гемолимфе митилид выделяют еще один промежуточный структурный тип клеток, так называемые полугранулоциты (Ottaviani et al., 1998; García-García et al., 2008; Le Foll et al., 2010; Анисимова, 2012; Sendra et al., 2020). Такие же клетки обнаружены и у других Bivalvia, например, у *Mercenaria mercenaria* и *Ruditapes phillipinarum*, где эти клетки упоминаются как слабогранулярные гранулоциты (Allam et al., 2002). Мы не выделяли полугранулоциты мидии Грея в отдельный морфотип, хотя и использовали данный подход ранее для классификации гемоцитов *Modiolus kurilensis* (см.: Анисимова, 2012). Исходя из концепции одного клеточного типа, которая подразумевает наличие переходных форм (Mix, 1976; Ottaviani et al., 1998; Rebelo et al., 2013), мы относили такие клетки к гиалиноцитам либо к базофильным гранулоцитам. Альтернативная точка зрения о независимом происхождении гранулоцитов и гиалиноцитов предлагает рассматривать слабогранулированные клетки как опустевшие в результате дегрануляции зрелые гранулоциты (Cheng, 1981). Независимо от взглядов на гистогенетическую преемственность гиалиноцитов и гранулоцитов обе гипотезы сходятся в том, что созревание гранулярных клеток сопровождается замещением незрелых базофильных гранул зрелыми эозинофильными.

В исследованных нами выборках мидии Грея гранулоцитов, как правило, было значительно больше, чем агранулоцитов; доля гранулоцитов в циркуляции составляла от 40 до 100% летом и от 90 до 100% осенью при медианах более 95% в обоих случаях. Судя по литературным данным, преобладание гранулоцитов типично для митилид (Carballal et al., 1998; Wootton et al., 2003; Galimany et al., 2008; Le Foll et al., 2010; Анисимова, 2012), хотя имеются и противоположные данные (Andreyeva et al., 2019; Parrino et al., 2019), что можно объяснить различием условий, при которых были изучены моллюски. Пропорция гранулярных и агранулярных клеток может радикально изменяться в зависимости от свойств воды – температуры, солености, pH, уровня растворенного кислорода и наличия ксенобиотиков, при этом увеличение доли гиалиноцитов наблюдали в менее благоприятных условиях (Parrino et al., 2019). У отдельных особей мидии Грея, особенно в летних выборках, было снижено содержание эозинофильных гранулоцитов, хотя, как правило, именно они составляли большинство (медианы 82% летом и 88% осенью), иногда абсолютное (до 99%). В известных нам примерах эозинофильные гранулоциты не преобладали над остальными формами клеток. Так, в отношении *Mytilus galloprovincialis* сообщалось о 47.90 ± 0.72% эозинофилов при общем содержании гранулоцитов 84.48 ± 0.43% (Carballal et al., 1998); по другим данным у этого же вида большинство гранулоцитов имели базофильные гранулы (Andreyeva et al., 2019). В гемолимфе *Mytilus edulis* базофильные и эозинофильные гранулоциты были распределены в пропорции 47.57 ± 4.32 и 43.01 ± 4.65% соответственно (Wootton et al., 2003), по другим данным – 20–25 и 35–65% (Le Foll et al., 2010) или до 60% эозинофильных клеток в норме (Galimany et al., 2008). Для сравнения, у мидии Грея доля базофильных, нейтрофильных и эозинофильных гранулоцитов в осенней выборке составляла 10.93 ± 1.37, 13.27 ± 2.98 и 74.10 ± 2.89% соответственно. Таким образом, на фоне других митилид *C. grayanus* демонстрирует рекордное преобладание высоко дифференцированных форм клеток. Отмеченное у некоторых особей уменьшение доли гранулоцитов, в том числе эозинофильных, может быть связано с миграцией зрелых фагоцитов в очаги поражения (Galimany et al., 2008) или в нерестовые гонады (Анисимова и др., 2017).

Методом проточной цитометрии гемоциты мидии Грея дифференцировались на четыре группы, обозначенные нами как регионы R1, R2, R3 и R4, которые различались размером (FSC) и гранулярностью (SSC) составляющих их клеток. Факт сильной прямой корреляции между FSC и SSC еще раз свидетельствует в пользу гипотезы Микса о последовательном созревании гиалиноцитов в гранулоциты, отражая структурные преобразования клеток в ходе гемопоэза. Скоррелировав результаты световой микроскопии и проточной цитометрии, мы предлагаем следующую схему позиционирования клеток на гистограммах FSC vs SSC: гемобласты располагаются в регионе R1, гиалиноциты – R2, эозинофильные гранулоциты – R4 либо R3, в зависимости от их размера и функционального состояния. Сопоставление данных в каждом отдельном случае заставляет предполагать, что регионы R2 и R3 являются смешанными, регион R3, по-видимому, представлен гранулоцитами всех сортов, а регион R2 помимо гиалиноцитов содержит переходные формы клеток, в которых гранулы немногочисленны либо не визуализируются. С большой вероятностью, в регион R2 попадают упомянутые выше полугранулоциты, которые при микроскопическом анализе могли быть учтены как базофильные гранулоциты. При аналогичном распределении гемоцитов *M. galloprovincialis* на четыре “субпопуляции” авторы определили составляющие их клетки как: R1 – большие гранулярные клетки, R2 – большие полугранулярные клетки, R3 – малые полугранулярные клетки, R4 – малые агранулярные (или гиалиновые) клетки (García-García et al., 2008). В других работах в гемолимфе этого же вида удавалось выделить три структурных типа клеток: R1 – эозинофильные гранулоциты, R2 – базофильные полугранулоциты и R3 – гиалиноциты (Le Foll et al., 2010; Sendra et al., 2020) или только два типа – гранулоциты и гиалиноциты (Andreyeva et al., 2019; Parrino et al., 2019). Гемоциты *M. kurilensis* также разделялись преимущественно на три группы при следующем соответствии: R1 – гиалиноциты (малые и большие), R2 – полугранулоциты и R3 – гранулоциты (Анисимова, 2012). Похожие результаты получены для *M. mercenaria* и *R. philippinarum*: к группе A преимущественно были отнесены гранулоциты (с примесью больших вакуолизированных агранулоцитов), к группе B – агранулоциты (с примесью слабогранулярных гранулоцитов), а промежуточная группа C содержала микс из слабогранулярных гранулоцитов и наиболее крупных вакуолизированных агранулоцитов (Allam et al., 2002). Очевидно, что во всех этих работах разными терминами обозначены одни и те же клетки. С одной стороны, поскольку гранулы развиваются постепенно, молодые гранулоциты на гистограммах FSC vs SSC ожидаемо заполняют пространство между агранулярными и гранулярными клетками. С другой стороны, эту область могут занимать и вполне зрелые гранулоциты, находящиеся в состоянии дегрануляции (Allam et al., 2002; Mateo et al., 2009; Rebelo et al., 2013). Так, перемещение гранулоцитов в облако гиалиноцитов наблюдали у *Mya arenaria* в ответ на воздействие патогенных микроорганизмов, вызывавших дегрануляцию и уменьшение количества лизосом (Mateo et al., 2009).

Высвобождение гранул сопровождалось их смещением в периферическую область цитоплазмы (Foley, Cheng, 1977), что было отмечено нами в некоторых нейтрофильных и эозинофильных гранулоцитах мидии Грея. Перед экзоцитозом гранулы могут сливаться (Rebelo et al., 2013), что также меняет физические свойства цитоплазмы гранулоцитов. Следовательно, положение гранулоцитов на графиках светорассеяния является динамичным и определяется индивидуальным иммунным статусом моллюска. Следует отметить, что наибольшее число корреляций между содержанием клеток определенных морфотипов и количеством событий в определенных регионах было получено в осенней выборке мидий. Летние выборки показали высокую степень смешанности регионов и перемещение части гранулоцитов в область R2, что приходится объяснять более высокой иммунологической активностью гемоцитов в этот период, а также увеличением числа молодых клеточных форм. Кроме того, сперматозоиды, присутствующие в летних пробах гемолимфы, оккупируют регион R1, смешиваясь в его составе с гемобластами. Впрочем, и в осенних образцах при крайне низком содержании гемобластов регион R1 был выражен отчетливо, что, скорее всего, можно объяснить наличием в пробах клеточных фрагментов и/или недоучетом малых клеток на микроскопических препаратах в условиях небольшой выборки.

Оценка содержания ДНК в ядрах гемоцитов мидии Грея не выявила признаков значимой пролиферации, в том числе и среди гемобластов, которые, как было показано для *R. philippinarum* (Matozzo et al., 2008; Cima, Matozzo, 2018), способны к размножению в гемолимфе даже в отсутствие иммунной стимуляции. Роль “пролиферативного компартмента” клеточной популяции гемоцитов Bivalvia традиционно отводится агранулоцитам со времен классических работ Микса (Mix, 1976) с применением тимидиновой авторадиографии; на этом была основана его модель гемопоэза с одним клеточным типом. В то же время, у *M. edulis* наблюдали включение меченых предшественников синтеза ДНК исключительно в базофильные гранулоциты (Renwrantz et al., 2013). В любом случае отсутствие митозов при малом количестве бластных форм в гемолимфе мидии Грея может говорить либо о низких темпах обновления клеточной популяции гемоцитов, либо о нарушении процесса пролиферации в связи с какими-то неблагоприятными факторами. В настоящей работе были исследованы мидии из фоновых акваторий, однако во многих образцах клетки всех размеров и всех уровней гранулярности формировали распределения, соответствующие патологиям митотического цикла – анеуплоидии и полиплоидии, что подтверждалось картинами двуядерности, в том числе в терминально дифференцированных эозинофильных гранулоцитах. Теоретически такие картины могли быть отражением протекающей телофазы, однако других митотических фигур не было обнаружено. Клетки сохраняли черты дифференцировки и не имели признаков атипии, поэтому мы склонны расценивать двуядерность как следствие давнего незавершенного митоза. Гемоциты с увеличенным содержанием ДНК имели более высокие показатели бокового светорассеяния, что можно объяснить повышением уровня структурной сложности клеток в связи с удвоением ядра. Гемоциты с содержанием ДНК менее 2*c*, напротив, теряли в показателях светорассеяния. Таким образом, появление в популяции гемоцитов с измененным состоянием генетического аппарата может влиять на плотность и позицию отдельных регионов. Эти эффекты было бы полезно рассмотреть с точки зрения поиска биомаркеров для массового скрининга на анеуплоидию, которая часто ассоциирована с генотоксическим действием среды (Piló et al., 2017).

Интересными оказались некоторые корреляции, полученные при сопоставлении количества клеток разных структурных типов. На отрезках “гемобласт (R1) – гиалиноцит (R2)” и “гиалиноцит (R2) – базофильный гранулоцит (R3)” выявлены прямые корреляции, что демонстрирует кинетику обратной положительной связи на этапе ранней дифференцировки клеток. Обратные же корреляции содержания эозинофильных гранулоцитов и остальных (базофильных) форм клеток по отдельности, всех гранулоцитов и гемобластов, а также клеток в регионе R4 и во всех остальных регионах, судя по всему, объясняются обратной отрицательной связью, по принципу которой регулируется тканевой гомеостаз. Описанные корреляции могут отражать соотношение процессов репродукции и дифференцировки клеток в популяции гемоцитов мидии Грея и подтверждают схему гемопоэза с одним клеточным типом (Mix, 1976; Ottaviani et al., 1998; Rebelo et al., 2013). Чем больше терминально дифференцированных клеток в популяции, тем меньше в ней молодых клеточных форм и, вероятно, тем ниже скорость ее обновления. Повышение количества базофилов, напротив, должно указывать на активное обновление популяции, что подтверждается прямой корреляцией между содержанием базофильных гранулоцитов и общим количеством клеток в гемолимфе. В этой связи напомним, что у *M. edulis* базофильные гранулоциты обнаруживали способность к репликации ДНК (Renwrantz et al., 2013), а в гемолимфе мидии Грея ни один из структурных типов клеток не показал митотическую активность, хотя в отдельных случаях наблюдали картины незавершенного асимметричного митоза.

На основании результатов исследования можно предположить, что вид *C. grayanus* реализует

стратегию, направленную на длительное сохранение клеток, что согласуется с высокой продолжительностью жизни моллюска и может быть связано с эффективной антиоксидантной защитой (Strahl, Abele, 2010). Развитие данного предположения мы видим в анализе возрастной динамики клеточной популяции гемоцитов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают глубокую признательность ст. н. с. Лаборатории физиологии ННЦМБ ДВО РАН В.Я. Кавуну за содействие в сборе материала и ст. н. с. Лаборатории клеточных технологий ННЦБМ ДВО РАН А.В. Бороде за организацию работы на проточном цитометре CytoFLEX.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Анисимова А.А. Идентификация клеточных субпопуляций гемоцитов *Modiolus kurilensis* (Bernard, 1983) (Bivalvia: Mytilidae) методами проточной цитометрии и световой микроскопии // Биол. моря. 2012. Т. 38. № 5. С. 400–408.

Анисимова А.А. Морфофункциональные параметры гемоцитов в оценке физиологического состояния двустворчатых моллюсков // Биол. моря. 2013. Т. 39. № 6. С. 389–399.

Анисимова А.А., Пономарева А.Л., Гринченко А.В. и др. Состав и сезонная динамика клеточной популяции гемоцитов двустворчатого моллюска *Corbicula japonica* Prime, 1864 из эстуария реки Киевка (бассейн Японского моря) // Биол. моря. 2017. Т. 43. № 2. С. 125–132.

Дзюба С.М., Романова Л.Г. Морфология амебоцитов гемолимфы приморского гребешка // Цитология. 1992. Т. 34. № 10. С. 52–54.

Кавун В.Я., Шулькин В.М. Изменение микроэлементного состава органов и тканей двустворчатого моллюска *Crenomytilus grayanus* при акклиматизации в биотопе, хронически загрязненном тяжелыми металлами // Биол. моря. 2005. Т. 31. № 2. С. 123–128.

Ковалев Н.Н., Костецкий Э.Я., Веланский П.В. и др. Оценка стабильности жирнокислотного состава основных мембранных липидов мидии Грея *Crenomytilus grayanus* (Dunker, 1853) (Bivalvia: Mytilidae) в условиях хронического антропогенного загрязнения // Биол. моря. 2019. Т. 45. № 2. С. 114–124.

Явнов С.В. Атлас двустворчатых моллюсков дальневосточных морей России. Владивосток: Дюма. 2000. 168 с.

Allam B., Ashton-Alcox K.A., Ford S.E. Flow cytometric comparison of haemocytes from three species of bivalve molluscs // Fish Shellfish Immunol. 2002. V. 13. P. 141–158.

Andreyeva A.Y., Efremova E.S., Kukhareva T.A. Morphological and functional characterization of hemocytes in cultivated mussel (*Mytilus galloprovincialis*) and effect of hypoxia on hemocyte parameters // Fish Shellfish Immunol. 2019. V. 89. P. 361–367.

Carballal M.J., López C., Azevedo C., Villalba A. In vitro study of phagocytic ability of *Mytilus galloprovincialis* Lmk. haemocytes // Fish Shellfish Immunol. 1997. V. 7. P. 403–416.

Carballal M.J., Villalba A., López C. Seasonal variation and effects of age, food availability, size, gonadal development, and parasitism on the hemogram of *Mytilus galloprovincialis* // J. Invertebr. Pathol. 1998. V. 72. P. 304–312.

Cheng T.C. Bivalves. In: Invertebrate blood cells. Eds. N.A. Ratcliffe, A.E. Rowley. London: Academic Press. 1981. V. 2. P. 233–300.

Cima F., Matozzo V. Proliferation and differentiation of circulating haemocytes of *Ruditapes philippinarum* as a response to bacterial challenge // Fish Shellfish Immunol. 2018. V. 81. P. 73–82.

Estrada N., Velázquez E., Rodríguez-Jaramillo C., Ascencio F. Morphofunctional study of hemocytes from lions-paw scallop *Nodipecten subnodosus* // Immunobiology. 2013. V. 218. № 8. P. 1093–1103.

Farrington J.W., Tripp B.W., Tanabe S. et al. Edward D. Goldberg's proposal of "the Mussel Watch": Reflections after 40 years // Mar. Pollut. Bull. 2016. V. 110. P. 501–510.

Foley D.A., Cheng T.C. Degranulation and other changes of molluscan granulocytes associated with phagocytosis // J. Invertebr. Pathol. 1977. V. 29. № 3. P. 321–325.

Galimany E., Place A.R., Ramón M. et al. The effects of feeding *Karlodinium veneficum* (PLY # 103; *Gymnodinium veneficum* Ballantine) to the blue mussel *Mytilus edulis* // Harmful Algae. 2008. V. 7. № 1. P. 91–98.

García-García E., Prado-Álvarez M., Novoa B. et al. Immune responses of mussel hemocyte subpopulations are differentially regulated by enzymes of the PI 3-K, PKC, and ERK kinase families // Dev. Comp. Immunol. 2008. V. 32. P. 637–653.

Kavun V.Y., Yurchenko O.V., Podgurskaya O.V. Integrated assessment of the acclimation capacity of the marine bivalve *Crenomytilus grayanus* under naturally highly contaminated conditions: Subcellular distribution of trace metals and structural alterations of nephrocytes // Sci. Total Environ. 2020. V. 739. Art. ID 139015. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139015

Le Foll F., Rioult D., Boussa S., Pasquier J. Characterisation of *Mytilus edulis* hemocyte subpopulations by single cell time-lapse motility imaging // Fish Shellfish Immunol. 2010. V. 28. № 2. P. 372–386.

Mateo D.R., Spurmanis A., Siah A. et al. Changes induced by two strains of *Vibrio splendidus* in haemocyte subpopulations of *Mya arenaria*, detected by flow cytometry

with LysoTracker // Dis. Aquat. Org. 2009. V. 86. № 3. P. 253–262.

Matozzo V., Marin M.G., Cima F., Ballarin L. First evidence of cell division in circulating haemocytes from the Manila clam *Tapes philippinarum* // Cell Biol. Int. 2008. V. 32. № 7. P. 865–868.

Mix M.C. A general model for leukocyte cell renewal in bivalve mollusks // Mar. Fish. Rev. 1976. V. 38. № 10. P. 37–41.

Ottaviani E., Franchini A., Barbieri D., Kletsas D. Comparative and morphofunctional studies on *Mytilus galloprovincialis* hemocytes: Presence of two aging-related hemocyte stages // Ital. J. Zool. 1998. V. 65. № 4. P. 349–354.

Parrino V., Costa G., Cannavà C. et al. Flow cytometry and micro-Raman spectroscopy: Identification of hemocyte populations in the mussel *Mytilus galloprovincialis* (Bivalvia: Mytilidae) from Faro Lake and Tyrrhenian Sea (Sicily, Italy) // Fish Shellfish Immunol. 2019. V. 87. P. 1–8.

Piló D., Carvalho S., Pereira P. et al. Is metal contamination responsible for increasing aneuploidy levels in the Manila clam *Ruditapes philippinarum*? // Sci. Total Environ. 2017. V. 577. P. 340–348.

Rebelo M.d.F., Figueiredo E.d.S., Mariante R.M. et al. New insights from the oyster *Crassostrea rhizophorae* on bivalve circulating hemocytes // PLoS One. 2013. V. 8. № 2. Art. ID e57384. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057384

Renault T. Immunotoxicological effects of environmental contaminants on marine bivalves // Fish Shellfish Immunol. 2015. V. 46. № 1. P. 88–93.

Renwrantz L., Siegmund E., Woldmann M. Variations in hemocyte counts in the mussel, *Mytilus edulis*: Similar reaction patterns occur in disappearance and return of molluscan hemocytes and vertebrate leukocytes // Comp. Biochem. Physiol., Part A: Mol. Integr. Physiol. 2013. V. 164. P. 629–637.

Sendra M., Carrasco-Braganza M.I., Yeste P.M. et al. Immunotoxicity of polystyrene nanoplastics in different hemocyte subpopulations of *Mytilus galloprovincialis* // Sci. Rep. 2020. V. 10. Art. ID 8637. https://doi.org/10.1038/s41598-020-65596-8

Sminia T., van der Knaap W.P.W. Cells and molecules in molluscan immunology // Dev. Comp. Immunol. 1987. V. 11. P. 17–28.

Strahl J., Abele D. Cell turnover in tissues of the long-lived ocean quahog *Arctica islandica* and the short-lived scallop *Aequipecten opercularis* // Mar. Biol. 2010. V. 157. № 6. P. 1283–1292.

Sun J., Guo Y., Wang A. et al. Flow cytometric analysis of the defense functions of hemocytes from oyster (*Crassostrea ariakensis*) // Int. J. Agric. Biol. 2018. V. 20. P. 1413–1418.

Wootton E.C., Dyrynda E.A., Ratcliffe N.A. Bivalve immunity: comparisons between the marine mussel (*Mytilus edulis*), the edible cockle (*Cerastoderma edule*) and the razor-shell (*Ensis siliqua*) // Fish Shellfish Immunol. 2003. V. 15. P. 195–210.

Composition and Kinetics of Hemocyte Population in the Mussel *Crenomytilus grayanus* (Dunker, 1853)

A. A. Anisimova[a], M. N. Diagileva[a], O. A. Karusheva[a], A. V. Sinenko[a], and I. A. Dmitrieva[a]

[a]*Cell Biology and Genetics Department, Institute of the World Ocean, Far Eastern Federal University, Vladivostok 690922, Russia*

Based on light microscopy data, hemocytes of *Crenomytilus grayanus* are classified into five morphological types common for Bivalvia. In the stage of sexual inertia (late October), the proportions of the cell types are as follows: (1) hemoblasts (0.2 ± 0.1%), (2) hyalinocytes (1.9 ± 0.3%), and also (3) basophilic (10.9 ± 1.4%), (4) neutrophilic (13.3 ± 3.0%), and (5) acidophilic (74.1 ± 2.9%) granulocytes. All hemocytes are divided into four groups on the basis of their size (FSC) and complexity (SSC) by flow cytometry. A correlation analysis has shown that R1 corresponds to hemoblasts, R2 to hyalinocytes, and R4 to granulocytes and their acidophilic forms. However, these correlations are not observed in the summer season. The hemocyte morphology and quantitative relationships between their structural types confirm the Mix's hematopoietic model which postulates a histogenetic continuity of hyalinocytes and granulocytes. The arrangement of cells in the light-scatter dot plots (FSC vs. SSC) indicates their maturity stage, depends on functional status, and may change with disturbances of the mitotic cycle. The hemocyte population in *C. grayanus* shows a low rate of renewal and a dominance of acidophilic granulocytes (up to 99% of all cells in the sexual inertia stage), which suggests a strategy targeted at long-term maintenance of highly differentiated cells and is consistent with high life expectancy of the species.

Keywords: hemocytes, hematopoiesis, histogenesis, *Crenomytilus grayanus*, Mytilidae, Bivalvia

EDN: CFFWPI
БИОЛОГИЯ МОРЯ, 2022, том 48, № 4, с. 262–272

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

УДК 594.8

ОРГАНИЗАЦИЯ ЦЕЛОМИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ ЛОФОФОРА У БРАХИОПОДЫ *COPTOTHYRIS GRAYI* (DAVIDSON, 1852) (BRACHIOPODA: TEREBRATULIDA)

© 2022 г. А. В. Ратновская[1, *], Т. В. Кузьмина[1, **]

[1]*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Москва 119234, Россия*

**e-mail: belka190199@gmail.com*

***e-mail: kuzmina-t@yandex.ru*

Поступила в редакцию 25.11.2021 г.
После доработки 12.02.2022 г.
Принята к публикации 24.03.2022 г.

Плектолофный лофофор – самый сложно организованный тип лофофора современных брахиопод, характерный для отряда Terebratulida. На примере *Coptothyris grayi* (Davidson, 1852) впервые построена 3D-реконструкция целомической системы для плектолофного лофофора. Показано, что его целомическая система состоит из трех изолированных друг от друга компартментов. Первый компартмент выполняет транспортную и выделительную функции и представлен периэзофагеальным целомом, малыми и щупальцевыми целомическими каналами. Второй компартмент образован большими каналами лофофора, играющими роль гидроскелета. Третий компартмент представлен брахиальными карманами, которые сообщаются с перивисцеральным целомом и несут в себе выросты пищеварительной железы, позволяющие эффективно использовать пространство мантийной полости.

Ключевые слова: целом, Lophophorata, плектолофный лофофор, Brachiopoda

DOI: 10.31857/S0134347522040088

Брахиоподы, или плеченогие, – реликтовая группа морских беспозвоночных, которая достигла наибольшего разнообразия в палеозое (Harper et al., 2017). Тело брахиопод заключено в минерализованную раковину с дорсальной и вентральной створками. Передняя стенка тела образует дорсальную и вентральную мантийные складки, выстилающие мантийную полость и секретирующие раковину. В мантийной полости находится лофофор – щупальцевый орган, создающий токи воды для дыхания и фильтрации пищевых частиц.

Лофофор является синапоморфией надтипового таксона Lophophorata, в состав которого входят брахиоподы, форониды и мшанки (Hyman, 1959). У всех представителей Lophophorata лофофор формирует брахиальная ось, которая представляет собой ряд щупалец. Вдоль брахиальной оси тянется складка стенки тела (брахиальная складка). Между щупальцами и брахиальной складкой располагается пищевой желобок (Rudwick, 1970; Kuzmina et al., 2021). В центре брахиальной оси внутри пищевого желобка всегда расположен рот. За ртом находится одинарный ряд околоротовых (оральных) щупалец. У большинства брахиопод с двух сторон ото рта ряд щупалец становится двойным, ближе к брахиальной складке располагаются внутренние гребенчатые щупальца, а дальше от нее – наружные желобчатые щупальца (Rudwick, 1970; Кузьмина, Малахов, 2007). На концах брахиальной оси расположена зона закладки новых щупалец лофофора (Atkins, 1959a, 1959b, 1959c; Kuzmina et al., 2021).

Было высказано предположение, что эволюция лофофора брахиопод связана с удлинением брахиальной оси (Williams et al., 1997; Williams, Carlson, 2007; Kuzmina, Temereva, 2019). У брахиопод выделено несколько типов щупальцевого аппарата (Beecher, 1897; Emig, 1992; Kuzmina, Temereva, 2019; Kuzmina et al., 2021). Наиболее просто устроены таксолофный, трохолофный и шизолофный типы лофофора. Они являются последовательными стадиями онтогенеза лофофора у брахиопод с более сложно организованными типами щупальцевого аппарата, таких как спиролофный, зиголофный и плектолофный (Rudwick, 1970; Emig, 1992).

Брахиоподы представлены подтипами Linguliformea, Craniiformea и Rhynchonelliformea (Williams et al., 1996). Отряд Terebratulida (Rhynchonel-

liformea: Rhynchonellata) – один из наиболее успешных отрядов современных плеченогих. У большинства его представителей самый сложно организованный тип щупальцевого аппарата среди современных брахиопод – плектолофный лофофор, состоящий из трех рук, свободно расположенных в мантийной полости. Плектолофный лофофор поддерживается известковым скелетом (брахидиумом), который может быть представлен длинной или короткой петлей (Rudwick, 1970).

Первые сведения об организации целомической системы у брахиопод получены в XIX веке на основе анатомирования животных (Hancock, 1858). Изучение лофофорального целома брахиопод продолжилось в XX–XXI веках с использованием гистологических методов. В разной степени подробности был описан целом лофофора у лингулиформных брахиопод *Lingula anatina* из семейства Lingulidae (см.: Pross, 1980) и *Pelagodiscus atlanticus* из семейства Discinidae (см.: Kuzmina, Temereva, 2019); у ринхонеллиформных брахиопод *Pumilus antiquatus* (см.: Atkins, 1958), *Terebratalia transversa* (см.: Atkins, 1959a), *Platidia anomioides* (см.: Atkins, 1959b), *Macandrevia cranium* (см.: Atkins, 1959c), *Megathiris detruncata* (см.: Atkins, 1960), *Calloria inconspicua* (см.: Atkins, 1961a) и *Megerlia truncata* (см.: Atkins, 1961b) из отряда Terebratulida, а также у *Notosaria nigricans* (см.: Hoverd, 1985) и *Hemithiris psittacea* (см.: Кузьмина и др., 2006) из отряда Rhynchonellida. С помощью методов трансмиссионной электронной микроскопии исследована ультраструктура целомического эпителия лофофора у лингулиды *L. anatina* (см.: Storch, Welsch, 1976; Temereva, 2017), ринхонеллиды *H. psittacea* (см.: Kuzmina, Malakhov, 2011; Kuzmina et al., 2018) и теребратулиды *T. transversa* (см.: Reed, Cloney, 1977). Относительно недавно для изучения целомической системы брахиопод стали применять метод 3D-реконструкции по серии гистологических срезов. Построены 3D-реконструкции лофофорального целома *L. anatina* (см.: Temereva et al., 2015; Temereva, 2017) и целомической системы крانииформной брахиоподы *Novocrania anomala* (см.: Plandin, Temereva, 2021).

Однако не все аспекты организации целома у брахиопод исследованы достаточно подробно. До сих пор отсутствуют сведения о строении периэзофагеального целома и его взаимосвязи с другими отделами целомической системы у теребратулид. В настоящей работе впервые построена 3D-модель целомических полостей плектолофного лофофора брахиоподы *Coptothyris grayi* (Rhynchonelliformea: Terebratulida) и проведен сравнительный анализ организации целомической системы у лофофорат.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Три взрослые особи *C. grayi* были собраны в июле 2019 г. на глубине 8–10 м в зал. Восток Японского моря в районе морской биологической станции “Восток” Национального научного центра морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН. Животных фиксировали 4% формалином на морской воде.

Анатомию лофофора изучали с помощью метода ручного анатомирования крупных экземпляров (длина вентральной створки 19 мм) под бинокуляром Leica M165C со встроенной цифровой камерой Leica DFC420. Для изучения строения лофофора также был использован метод компьютерной микротомографии. Для этого целая брахиопода (длина вентральной створки 8 мм) была зафиксирована в формалине, отмыта в воде, обезвожена в спиртах восходящей концентрации, переведена в ацетон и высушена с использованием метода критической точки в CO_2 на аппарате сушки Hitachi critical point dryer HCP-1. Из высушенной раковины был извлечен лофофор и отсканирован на микротомографе. Сканирование было проведено в Лаборатории природных ресурсов Геологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова на микротомографе SkyScan 1172 (Bruker) при разрешении 9 мкм с шагом вращения 0.3 градуса, без фильтра, при напряжении 40 кВ и силе тока 250 мА. Полученные данные были обработаны в программах NRecon, DataViewer и CTVox.

Для построения трехмерной реконструкции по стандартной гистологической методике (Валовая, Кавтарадзе, 1993) при помощи ротационного микротома Leica RM 2125 изготовили серию гистологических срезов толщиной 5 мкм в поперечной плоскости одного экземпляра (длина вентральной створки 15 мм). Срезы окрашивали гематоксилином Караччи и заключали в канадский бальзам, затем фотографировали при помощи слайд-сканера Olympus VS-ASW с объективом ×10 (срезы фотографировали с интервалом 20 мкм). Полученные фотографии обрезали и уменьшали в программе IrfanView, а затем выравнивали в программе Amira ver. 5.2.2; 3D-реконструкции получены в программе Imaris ver. 7.2.1 (Bitplane, Zurich, Switzerland).

РЕЗУЛЬТАТЫ

1. Анатомия лофофора.

Мягкое тело *C. grayi* занимает заднюю часть объема между створками раковины брахиоподы, остальная часть пространства между створками представлена обширной мантийной полостью, в которой находится крупный лофофор (рис. 1а). Лофофор *C. grayi* образован сложно изогнутой брахиальной осью (рис. 1а). Почти на всем протяжении брахиальной оси щупальца образуют

двойной ряд, в котором чередуются внутренние и наружные щупальца (рис. 1б). В центре брахиальной оси расположено щелевидное ротовое отверстие. С дорсальной стороны ото рта находится брахиальная складка, а с вентральной стороны расположен одинарный ряд околоротовых щупалец. В области рта брахиальная ось отрывается от передней стенки тела и формирует три свободно расположенные руки лофофора – две латеральные и одну медиальную. Слева и справа ото рта брахиальная ось направлена в сторону переднего края раковины, образуя нисходящую ветвь соответственно левой и правой латеральной руки (рис. 1а). На конце каждой латеральной руки брахиальная ось изгибается вверх и возвращается ко рту, образуя восходящую ветвь. Дистальные концы восходящих ветвей латеральных рук, расположенные симметрично слева и справа ото рта, объединяются соединительно-тканной диафрагмой и закручиваются в виде спирали в сагиттальной плоскости в сторону дорсальной створки, формируя медиальную руку (рис. 1а). Таким образом, каждая рука лофофора состоит из двух брахиальных осей. На концах брахиальной оси в дистальной части медиальной руки лофофора находится зона роста лофофора, в которой происходит закладка новых щупалец (рис. 1а, 1в).

2. Организация целомической системы лофофора.

Целомическая система лофофора *C. grayi* образована периэзофагеальным целомом, малыми и большими целомическими каналами и брахиальными карманами (рис. 2а).

2.1. Периэзофагеальный целом.

Периэзофагеальный целом окружает рот и пищевод, наиболее обширен в околоротовой области. Затем он плавно сужается и в области перехода пищевода в желудок представлен узкими лакунами в соединительной ткани под передней стенкой тела (рис. 3а, 3г). Периэзофагеальный целом пересечен тонкими перегородками и дает многочисленные узкие ответвления (дивертикулы) в соединительную ткань, окружающую пищевод (рис. 3б). Данные 3D-реконструкции четко показали, что периэзофагеальный целом обособлен от туловищного целома (рис. 2а). За ртом от периэзофагеального целома берут начало целомические каналы околоротовых щупалец, которые слепо замыкаются на концах (рис. 3в, 3г). Кроме того, согласно данным 3D-реконструкции, с двух сторон ото рта от периэзофагеального целома берут начало малые каналы лофофора (рис. 3г, 4а–4г, 5).

2.2. Малые и щупальцевые целомические каналы.

Периэзофагеальный целом, с каждой стороны ото рта дает узкое ответвление, переходящее затем в левый и правый малые целомические каналы (рис. 3г, 4а). Малые целомические каналы на всем протяжении сопровождают брахиальную ось лофофора (рис. 2а, 2б, 4а, 5), формируя слепо замкнутые ответвления в каждое щупальце. Слева и справа ото рта малые каналы сначала заходят соответственно в левую и правую латеральные руки лофофора, тянутся вдоль нисходящей ветви брахиальной оси в сторону переднего края раковины, а затем делают поворот на конце руки и идут вдоль восходящей ветви брахиальной оси назад ко рту. Таким образом, каждая боковая рука содержит два малых целомических канала (рис. 2б, 4д, 5). Далее левый и правый малые каналы изгибаются вперед и сопровождают две брахиальные оси в медиальной руке лофофора, закручиваясь в спираль. На конце медиальной руки малые каналы слепо замыкаются. Таким образом, медиальная рука также содержит два малых целомических канала (рис. 4е, 5).

2.3. Большие целомические каналы.

В околоротовой области слева и справа от периэзофагеального целома располагаются большие целомические каналы. В отличие от малых каналов они слепо замкнуты на проксимальном конце и не связаны с периэзофагеальным целомом, хотя очень близко к нему подходят (рис. 4а–в). В околоротовой области каждый большой канал разделяется на боковую и медиальную ветви. Боковая ветвь продолжается вперед в латеральную руку и слепо замыкается на ее конце; медиальная ветвь с каждой стороны заходит в медиальную руку лофофора, закручиваясь в спираль (рис. 2а, 2б). Таким образом, в каждой латеральной руке тянется по одному большому целомическому каналу (рис. 2б, 2в, 4д, 5), а в медиальной руке имеется два больших целомических канала (рис. 2а, 2б, 4е, 5).

2.4. Брахиальные карманы.

Рядом с большими целомическими каналами с внутренней стороны каждой латеральной руки лофофора тянется еще одна целомическая полость – брахиальный карман (рис. 2а, 2в, 4д). Данные 3D-реконструкции показали, что брахиальные карманы – это выросты дорсальной части перивисцерального целома (рис. 2в, 5). Перивисцеральный целом занимает большую часть тела брахиоподы и дает ответвления в мантийные складки, формируя разветвленную сеть мантийных каналов (рис. 1а).

С левой и правой стороны от сагиттальной плоскости дорсальная часть перивисцерального целома делится на две ветви: одна ветвь образует медиальный целомический канал мантии, который тянется к переднему краю мантии, а другая ветвь становится частью лофофора, формируя брахиальные карманы (рис. 2в, 5). Брахиальные карманы представляют собой широкие полости, которые постепенно сужаются и слепо замыкаются на концах латеральных рук. В брахиальные

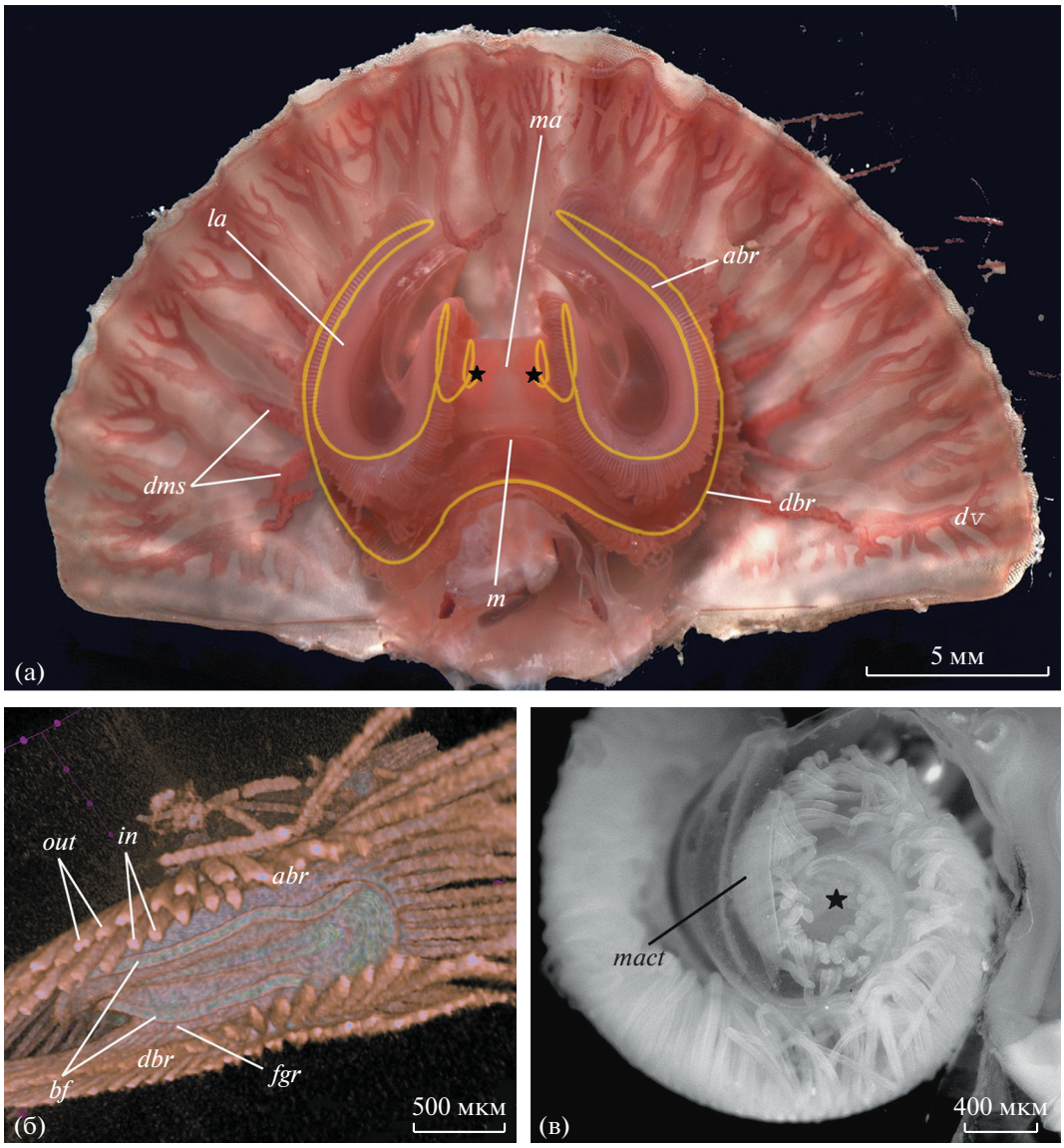

Рис. 1. Морфология лофофора *Coptothyris grayi*: а – вскрытая брахиопода с удаленной вентральной створкой (световая микроскопия), желтым цветом обозначена брахиальная ось; б – дистальный участок левой латеральной руки (микротомография); в – дистальная часть медиальной руки (световая микроскопия). Обозначения: *abr* – восходящая ветвь, *bf* – брахиальная складка, *dbr* – нисходящая ветвь, *dms* – дорсальные мантийные каналы, *dv* – дорсальная створка раковины, *fgr* – пищевой желобок, *in* – внутренние щупальца, *la* – латеральная рука, *m* – рот, *ma* – медиальная рука, *mact* – соединительно-тканная перегородка медиальной руки, *out* – наружные щупальца. Звездочками указана зона роста лофофора (место формирования новых щупалец).

карманы заходят выросты пищеварительной железы (рис. 4д).

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящей работе показано, что у брахиоподы *Coptothyris grayi* брахиальная ось содержит большой и малый целомические каналы. Это характерно для всех типов лофофора, кроме таксолофного, который встречается лишь как онтогенетическая стадия, и трохолофного. Трохолофный лофофор у взрослых особей описан только у видов *Gwynia capsula* и *Goniobrochus* sp. из отряда Terebratulida (см.: Emig, 1992) и содержит всего один малый целомический канал, дающий ответвление в каждое щупальце. Малый канал всех типов лофофора несет лофофоральный кровеносный сосуд (Atkins, 1959b; Reed, Cloney, 1977; Kuzmina et al., 2018) и, вероятно, выполняет транспортную функцию, связанную с дыхательной функцией лофофора. При удлинении брахиальной оси возникает необходимость поддержки лофофора, поэтому, начиная с шизолофного ло-

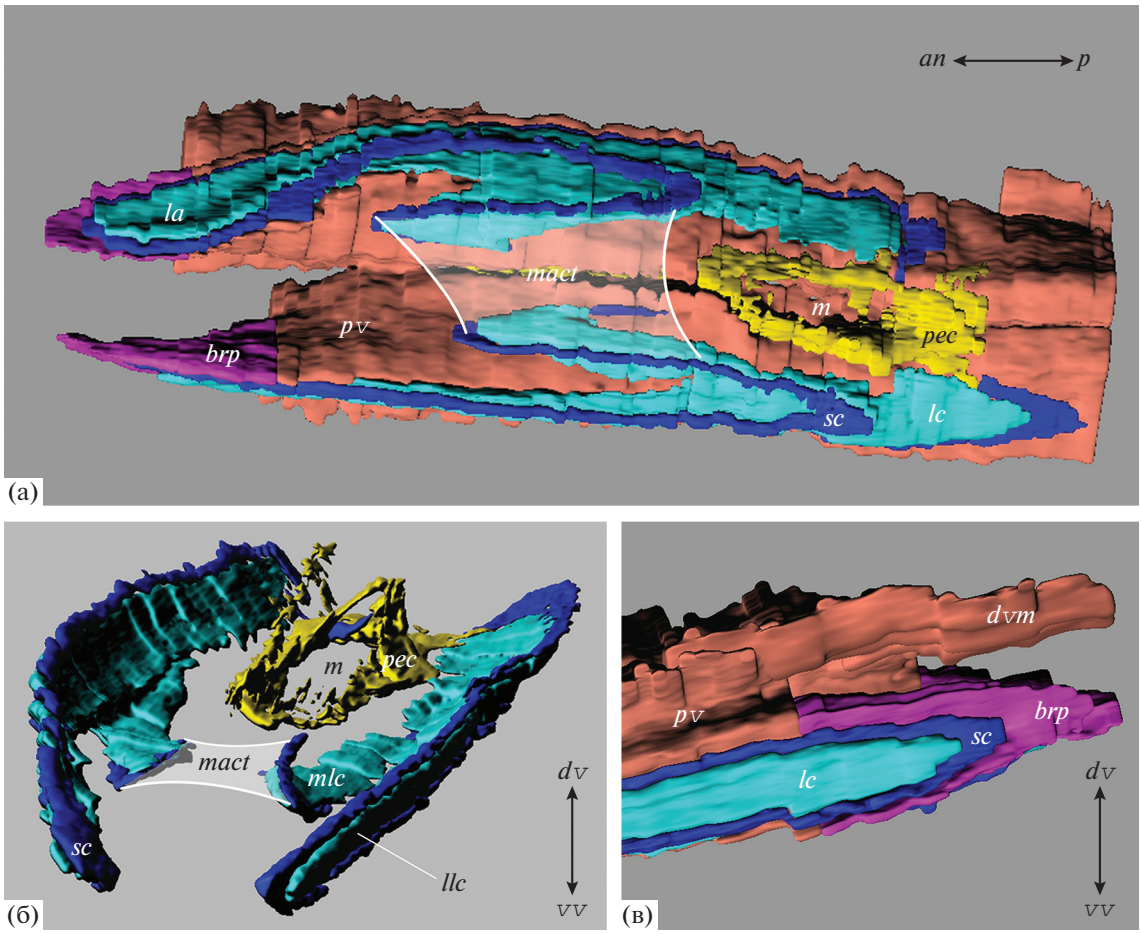

Рис. 2. 3D-реконструкция целомической системы лофофора *Coptothyris grayi*: а – общая 3D-реконструкция, вид с вентральной стороны; б – 3D-реконструкция больших и малых каналов лофофора; в – 3D-реконструкция целомической системы латеральной руки лофофора и связанного с ней перивисцерального целома. Обозначения: *brp* – брахиальный карман, *dvm* – дорсальный медиальный мантийный канал, *la* – латеральная рука, *lc* – большой канал, *llc* – большой канал латеральной руки, *m* – рот, *mact* – соединительно-тканная диафрагма медиальной руки, *mlc* – большой канал медиальной руки, *pec* – периэзофагеальный целом, *pv* – перивисцеральный целом, *sc* – малый канал. Двойные стрелки указывают направление к переднему (*an*) и заднему (*p*) концам тела, а также к дорсальной (*dv*) и вентральной (*vv*) створкам.

фофора, появляется большой целомический канал, который выполняет функцию гидроскелета.

Согласно нашим данным, большие каналы плектолофного лофофора *C. grayi* изолированы друг от друга в околоротовой области. Сходное строение больших каналов лофофора описано у теребратулиды *P. antiquatus* с шизолофным лофофором (Atkins, 1958), у лингулиды *L. anatina* (см.: Pross, 1980), крания *N. anomala* (см.: Plandin, Temereva, 2021) и ринхонеллиды *H. psittacea* (см.: Кузьмина и др., 2006) со спиролофными лофофорами, у дисциниды *P. atlanticus* с видоизмененным зиголофным лофофором (Kuzmina, Temereva, 2019), а также у теребратулид *T. transversa*, *P. anomioides*, *C. inconspicua* и *M. truncata*, обладающих плектолофным лофофором (Atkins, 1959a, 1959b, 1961a, 1961b). Такое строение позволяет большим каналам эффективнее контролировать давление целомической жидкости на стенки канала, тем самым увеличивая или уменьшая тургор лофофора. Гидростатическую функцию больших каналов лофофора подтверждает наличие мышц, образованных целомическим эпителием больших каналов. Они описаны для спиролофного лофофора лингулид (Temereva, 2017), краниид (Plandin, Temereva, 2021) и ринхонеллид (Kuzmina et al., 2018). У спиролофного лофофора *N. anomala* (см.: Plandin, Temereva, 2021) и *H. psittacea* (см.: Кузьмина и др., 2006) большие каналы имеют крупные дорсальные выросты в околоротовой области, которые, предположительно, могут хранить дополнительный объем жидкости для более эффективного функционирования гидроскелета больших целомических каналов (Plandin, Temereva, 2021). У *C. grayi* мы не обнаружили подобных выростов. Возможно, это связано с развитием у теребрату-

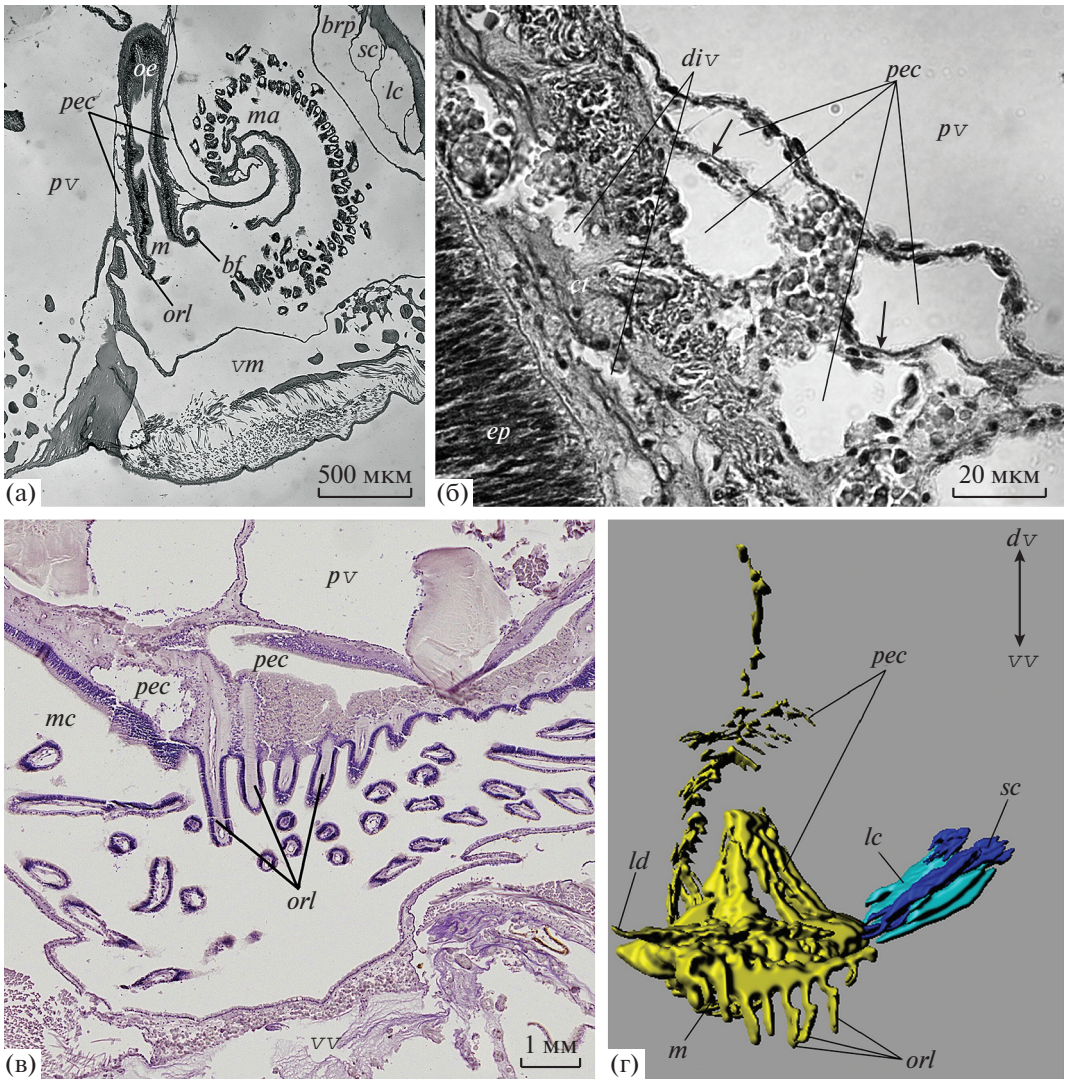

Рис. 3. Периэзофагеальный целом *Coptothyris grayi*: а – сагиттальный срез через околоротовую область (световая микроскопия); б – срез через участок периэзофагеального целома (световая микроскопия); в – продольный срез через одинарный ряд щупалец за ртом (световая микроскопия); г – 3D-реконструкция периэзофагеального целома, вид сзади. Обозначения: *bf* – брахиальная складка, *brp* – брахиальный карман, *ct* – соединительная ткань, *div* – дивертикулы периэзофагеального целома, *ep* – эпителий пищевода, *ld* – боковое ответвление периэзофагеального целома, *lc* – большой канал, *m* – рот, *ma* – медиальная рука, *mc* – мантийная полость, *oe* – пищевод, *orl* – оральные щупальца, *pec* – периэзофагеальный целом, *pv* – перивисцеральный целом, *sc* – малый канал, *vm* – вентральная складка мантии. Стрелки указывают на перегородки периэзофагеального целома; двойные стрелки указывают направление к дорсальной (*dv*) и вентральной (*vv*) створкам.

лид скелетных поддерживающих структур, снижающих значимость гидроскелета для поддержки плектолофного лофофора.

В лофофоре *C. grayi* каждая рука образована двумя брахиальными осями. При этом в латеральных руках происходит слияние больших каналов двух брахиальных осей; в медиальной руке слияния целомических каналов не происходит, две брахиальные оси связаны лишь соединительнотканной перегородкой. Такая организация брахиальных осей является апоморфным признаком для зиголофного и плектолофного лофофоров теребратулид (Atkins, 1959a, 1959b, 1959c; 1961a, 1961b). В модифицированном зиголофном лофофоре дисциниды *P. atlanticus* каждая латеральная рука также состоит из двух брахиальных осей, однако большие каналы не объединяются, а располагаются в общем соединительно-тканном матриксе (Kuzmina, Temereva, 2019). У теребратулид брахиальная ось значительно длиннее, чем у дисцинид, поэтому можно предположить, что слияние больших каналов двух брахиальных осей в латеральных руках приводит к дополнительному укреплению рук лофофора.

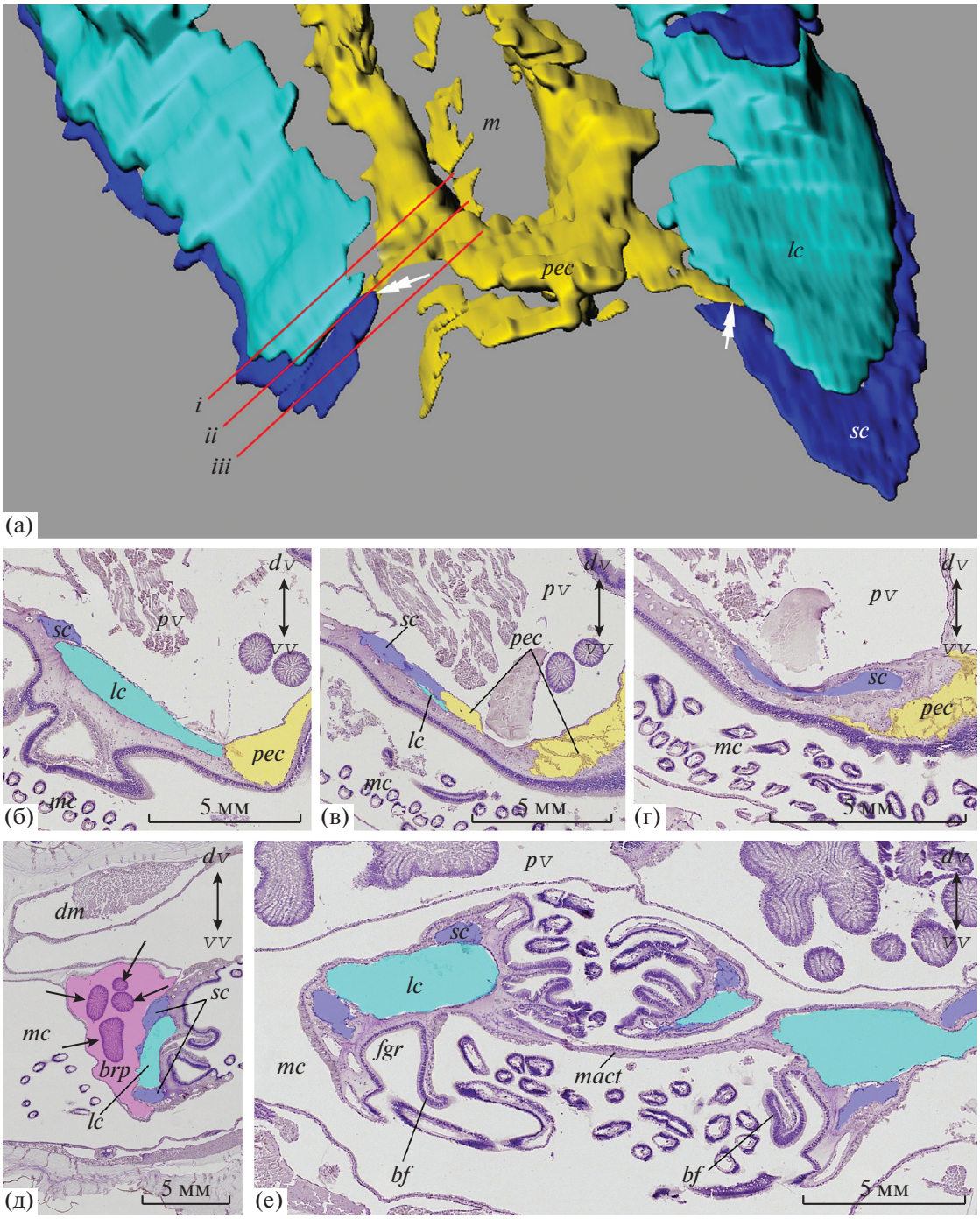

Рис. 4. Малые и большие целомические каналы лофофора *Coptothyris grayi*: а – 3D-реконструкция участка соединения малых каналов с периэзофагеальным целомом, вид с вентральной стороны (щупальца не реконструированы); б–г – серия поперечных гистологических срезов с интервалом 25 мкм через левую часть лофофора в области впадения малого канала в периэзофагеальный целом; д – поперечный срез через левую латеральную руку лофофора; е – поперечный срез через медиальную руку лофофора. Обозначения: *bf* – брахиальная складка, *brp* – брахиальный карман, *dm* – дорсальная мантия, *fgr* – пищевой желобок, *lc* – большой канал, *m* – рот, *mact* – соединительно-тканная диафрагма медиальной руки, *mc* – мантийная полость, *sc* – малый канал, *pec* – периэзофагеальный целом, *pv* – перивисцеральный целом; *i* – плоскость среза, рис. 4б; *ii* – плоскость среза, рис. 4в; *iii* – плоскость среза, рис. 4г. Белые стрелки указывают на соединения периэзофагеального целома с малыми каналами, черные стрелки – на срезы выростов пищеварительной железы в брахиальном кармане. Двойные стрелки указывают направление к дорсальной (*dv*) и вентральной (*vv*) створкам.

Пищевод *C. grayi* окружен периэзофагеальным целомом, который пересечен перегородками и образует многочисленные выросты в соединительную ткань вокруг пищевода. Сходная организация описана у периэзофагеального целома лингулиформных (Pross, 1980; Temereva, 2017), краниiформных (Blochmann, 1892; Robinson, 2014; Plandin, Temereva, 2021), а также ринхонеллиформных брахиопод из отрядов Rhynchonellida (Kuzmina, Malakhov, 2011) и Terebratulida (Atkins, 1958, 1959a, c). Исследования ультраструктуры периэзофагеального целома ринхонеллиформных (Kuzmina, Malakhov, 2011) и краниiформных (Plandin, Temereva, 2021) брахиопод выявили хорошо развитые мышечные клетки в составе эпителиальной выстилки выростов периэзофагеального целома в соединительную ткань, окружающую пищевод, что, вероятно, служит для усиления мышечной обкладки пищевода. Периэзофагеальный целом *C. grayi* также образует похожие выросты вокруг пищевода, однако для подтверждения аналогичной функции этих выростов требуются дальнейшие ультраструктурные исследования.

На примере *C. grayi* впервые для теребратулид показано, что периэзофагеальный целом плектолофного лофофора дает слепо замкнутые ответвления в каждое околоротовое щупальце. Сходные данные по организации периэзофагеального целома получены для спиролофного лофофора ринхонеллиды *H. psittacea* (см.: Кузьмина и др., 2006) и краниiды *N. anomala* (см.: Plandin, Temereva, 2021). Взаимосвязь целомов околоротовых щупалец и периэзофагеального целома, вероятно, является характерной чертой всех брахиопод.

Периэзофагеальный целом *C. grayi* сообщается с малыми целомическими каналами лофофора, что ранее было описано для спиролофного лофофора *H. psittacea* (см.: Kuzmina, Malakhov, 2011), *N. anomala* (см.: Plandin, Temereva, 2021) и *L. anatina* (см.: Pross, 1980), шизолофного лофофора *P. antiquatus* (см.: Atkins, 1958) и плектолофного лофофора *M. cranium* (см.: Atkins, 1959c). Известно, что в перегородках периэзофагеального целома *H. psittacea* проходит сеть кровеносных сосудов, стенки которых образованы подоцитоподобными клетками. Высказано предположение, что в периэзофагеальном целоме брахиопод происходит ультрафильтрация жидкости (Kuzmina, Malakhov, 2011). Взаимосвязь малых каналов лофофора с периэзофагельным целомом у всех изученных групп брахиопод, вероятно, обусловлена выделительной функцией малых каналов. Предполагается, что водорастворимые продукты обмена (в частности, аммоний) выводятся в окружающую среду диффузией сквозь стенку тела из кровеносных сосудов в щупальцах лофофора (Peck et al., 1997; Williams et al., 1997; Kuzmina, Malakhov, 2011).

В настоящей работе впервые для теребратулид показано, что периэзофагеальный целом *C. grayi* обособлен от перивисцерального целома. Это согласуется с данными, полученными ранее для лингулиформных (Temereva, 2017) и краниiформных (Plandin, Temereva, 2021) брахиопод, а также для ринхонеллиформных брахиопод из отряда Rhynchonellida (Kuzmina, Malakhov, 2011). Полученные результаты уточняют сведения об организации периэзофагеального целома у теребратулид, для которых ранее не была показана изолированность периэзофагеальной полости от перивисцерального целома (Atkins, 1958; 1959a, 1959c).

У изученного вида *C. grayi* описаны брахиальные карманы, которые являются выростами перивисцерального целома и сопровождают латеральные руки лофофора. Наличие брахиальных карманов является апоморфным признаком плектолофного лофофора теребратулид (Atkins, 1959a, 1959b; 1961a, 1961b; Кузьмина, Малахов, 2007). Нами показано, что брахиальные карманы *C. grayi* содержат часть пищеварительной железы. Ранее отростки пищеварительной железы в брахиальных карманах были изображены на схемах поперечного среза через плектолофный лофофор у теребратулид *C. inconspicua* и *M. truncata* (см.: Atkins, 1961a, 1961b), хотя в тексте статей об этом не упоминается. Можно предположить, что расположение пищеварительной железы внутри латеральных рук лофофора позволяет более рационально использовать пространство мантийной полости.

Исходя из полученных результатов, у взрослых теребратулид можно выделить три изолированных компартмента целомической системы: целом больших каналов лофофора; периэзофагеальный целом, связанный с малыми и щупальцевыми каналами лофофора; обширный перивисцеральный целом, который дает выросты в брахиальные карманы, сопровождающие латеральные руки лофофора, и в мантию (рис. 5).

Ранее было показано, что в онтогенезе теребратулид целом лофофора формируется из единого целомического зачатка (Percival, 1960; Williams et al., 1997; Кузьмина и др., 2019), поэтому можно предположить, что большие, малые и щупальцевые каналы, а также периэзофагеальный целом являются одним отделом целомической системы и представляют собой лофофоральный целом. Таким образом, у теребратулид можно выделить два отдела целомической системы: лофофоральный и перивисцеральный. Сходным образом организована целомическая система у представителей другого отряда ринхонеллиформных брахиопод – Rhynchonellida (Кузьмина и др., 2006; Kuzmina, Malakhov, 2011).

У представителя краниiформных брахиопод *N. anomala* описана пентамерия целома и выделе-

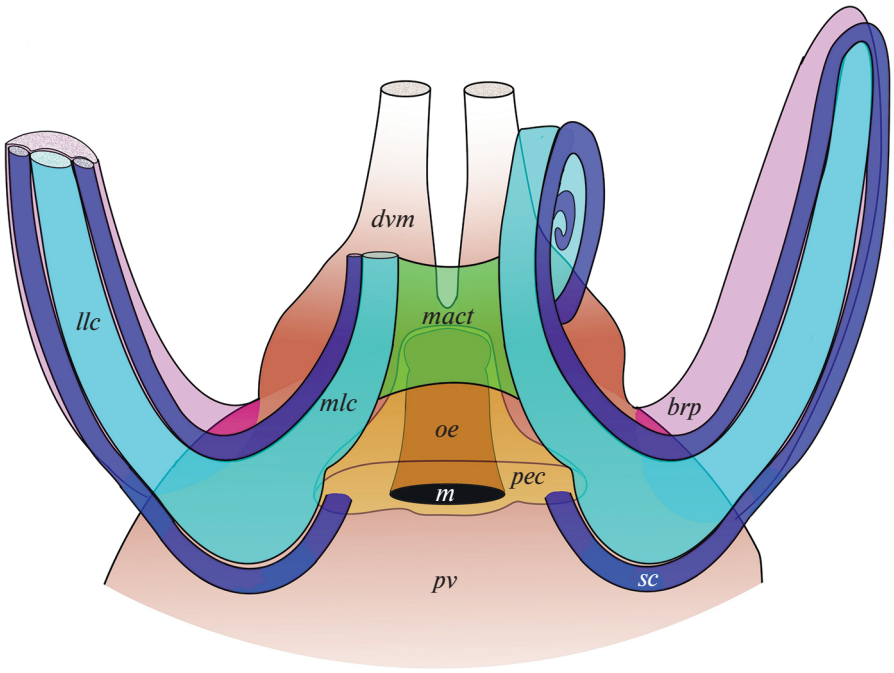

Рис. 5. Схема строения целомической системы лофофора *Coptothyris grayi*. Обозначения: *brp* – брахиальный карман, *dvm* – дорсальный медиальный мантийный канал, *llc* – большой канал латеральной руки, *m* – рот, *mact* – соединительно-тканная диафрагма медиальной руки, *mlc* – большой канал медиальной руки, *oe* – пищевод, *pec* – периэзофагеальный целом, *pv* – перивисцеральный целом, *sc* – малый канал.

ны следующие компартменты целомической системы: большие каналы; малые каналы, связанные с периэзофагеальным целомом; фронтальные камеры; перивисцеральный целом и камеры задних аддукторов (Plandin, Temereva, 2021). Поскольку у *N. anomala* целом лофофора формируется из одного целомического зачатка (Nielsen, 1991), малые целомические каналы, периэзофагеальный целом и большие целомические каналы лофофора можно отнести к лофофоральному целому. Фронтальные камеры и камеры задних аддукторов встречаются исключительно у краниiформных брахиопод, поэтому можно предположить, что они являются производными перивисцерального целома, внутри которых формируется мускулатура: внутри фронтальных камер располагаются фронтальные мышцы лофофора, а внутри задних камер формируются задние мышцы-замыкатели (Plandin, Temereva, 2021). Важно отметить, что мышцы лофофора и задние мышцы-замыкатели у представителей других подтипов брахиопод располагаются внутри перивисцерального целома (Williams et al., 1997).

У представителя лингулиформных брахиопод *L. anatina* помимо лофофорального и перивисцерального целомов описан преоральный целом, который располагается надо ртом в брахиальной складке (Temereva et al., 2015; Temereva, 2017). Таким образом, у брахиопод можно выделить тримерию целома (см. также: Темерева, Малахов, 2011). Преоральный целом, характерный только для лингулиформных брахиопод, представляет собой протоцель. Лофофоральный целом является мезоцелем, а перивисцеральный целом – метацелем.

Тримерия целомов рассматривается и для других представителей лофофорат – мшанок и форонид (Темерева, Малахов, 2006; Темерева, Малахов, 2011; Hyman, 1959; Mukai et al., 1997; Temereva, Malakhov, 2011; Temereva, 2015), мезоцель которых также представлен лофофоральным целомом. Однако мезоцель у брахиопод имеет наиболее сложную морфологию и в большинстве случаев состоит из двух изолированных компартментов: большого канала, выполняющего функцию гидроскелета, а также связанного с щупальцевыми каналами и периэзофагеальным целомом малого канала, выполняющего циркуляторную функцию. Такое разделение функций целомической системы лофофора брахиопод позволило представителям этой группы максимально удлинить брахиальную ось и достигнуть наибольшего разнообразия типов лофофора по сравнению с другими лофофоратами.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы и использования животных были соблюдены.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках проекта РНФ 18-14-00082-Р.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Валовая М.А., Кавтарадзе Д.Н. Микротехника: правила, приемы, искусство, эксперимент. М.: Изд-во МГУ. 1993. 240 с.

Кузьмина Т.В., Малахов В.В., Темерева Е.Н. Анатомия целомической системы замковой брахиоподы *Hemithyris psittacea* (Brachiopoda, Articulata) // Зоол. журн. 2006. Т. 85. Вып. 9. С. 1118–1128.

Кузьмина Т.В., Малахов В.В. Организация лофофора брахиопод // Палеонт. журн. 2007. Т. 5. С. 46–63.

Кузьмина Т.В., Малахов В.В., Темерева Е.Н. Личиночное развитие брахиопод Coptothyris grayi (Davidson, 1852) (Terebratulida: Rhynchonelliformea) и эволюция жизненных циклов брахиопод // Зоол. беспозв. 2019. Т. 16. № 1. С. 27–40.

Темерева Е.Н., Малахов В.В. Ответ Томасу Бартоломеусу: "Личинка форониды *Phoronopis harmeri* Pixell, 1912 имеет тримерную организацию целома" // Зоол. беспозв. 2006. Т. 3. № 1. С. 1–21.

Темерева Е.Н., Малахов В.В. Свидетельство метамерии у взрослых брахиопод и форонид // Зоол. беспозв. 2011. Т. 8. № 2. С. 87–101. https://doi.org/10.15298/invertzool.08.2.01

Atkins D. A new species and genus of Kraussinidae (Brachiopoda) with a note on feeding // Proc. Zool. Soc. London. 1958. V. 131. P. 559–582.

Atkins D. The growth stages of the lophophore and loop of the brachiopod *Terebratalia transversa* (Sowerby) // J. Morphol. 1959a. V. 105. № 3. P. 401–426.

Atkins D. The growth stages of the lophophore of the brachiopods *Platidia davidsoni* (Eudes deslongchamps) and *P. anomioides* (Philippi), with notes on the feeding mechanism // J. Mar. biol. Assoc. U.K. 1959b. V. 38. P. 103–132.

Atkins D. The early growth stages and adult structure of the lophophore of *Macandrevia cranium* (Müller) (Brachiopoda, Dallinidae) // J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 1959c. V. 38. P. 335–350.

Atkins D. The ciliary feeding mechanism of the Megathyridae (Brachiopoda), and the growth stages of the lophophore // J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 1960. V. 39. P. 459–479.

Atkins D. A note on the growth stages and structure of the adult lophophore of the brachiopod *Terebratella (Waltonia) inconspicua* (G. B. Sowerby) // Proc. Zool. Soc. London. 1961a. V. 136. P. 255–271.

Atkins D. The growth stages and adult structure of the lophophore of the brachiopods *Megerlia truncata* (L.) and *M. echinata* (Fischer & Oehlert) // J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 1961b. V. 41. P. 95–111.

Beecher C.E. Morphology of the Brachia // Bull. U.S. Geol. Surv. 1897. V. 87. P. 105–112.

Blochmann F. Untersuchungen über den Bau der Brachiopoden // Die Anatomie von *Crania anomala* (Müller). Jena: Gustav Fischer. 1892. Pt. 1. P. 1–65.

Emig C.C. Functional disposition of the lophophore in living Brachiopoda // Lethaia. 1992. V. 25. P. 291–302.

Hancock A. On the organization of the Brachiopoda // Philos. Trans. R. Soc. London. 1858. V. 148. P. 791–869.

Harper D.A.T., Popov L.E., Holmer L.E. Brachiopods: origin and early history // Palaeontology. 2017. V. 60. № 5. P. 1–23.

Hoverd W.A. Histological and ultrastructural observations of the lophophore and larvae of the brachiopod, *Notosaria nigricans* (Sowerby 1846) // J. Nat. Hist. 1985. V. 19. № 5. P. 831–850.

Hyman L.H. The Invertebrates: Smaller coelomate groups. New York: McGraw Hill. 1959. P. 1–783.

Kuzmina T.V., Malakhov V.V. The periesophageal celom of the articulate brachiopod *Hemithyris psittacea* (Rhynchonelliformea, Brachiopoda) // J. Morphol. 2011. V. 272. P. 180–190.

Kuzmina T.V., Ratnovskaya A.A., Madison A.A. Lophophore evolution from the Cambrian to the present // Paleontol. J. 2021. V. 55. № 10. P. 1109–1140.

Kuzmina T.V., Temereva E.N., Malakhov V.V. Ultrastructure of the lophophoral coelomic lining in the brachiopod *Hemithiris psittacea*: functional and evolutionary significance // Zoomorphology. 2018. V. 137. № 2. P. 257–272.

Kuzmina T.V., Temereva E.N. Organization of the lophophore in the deep-sea brachiopod *Pelagodiscus atlanticus* and evolution of the lophophore in the Brachiozoa // Org. Diversity Evol. 2019. V.19. P. 31–39.

Mukai H., Terakado K., Reed C.G. Bryozoa // Microscopic anatomy of invertebrates. V. 13: Lophophorates, Entoprocta and Cycliophora. New York: Wiley-Liss. 1997. P. 45–206.

Nielsen C. The development of the brachiopod *Crania (Neocrania) anomala* (O. F. Müller) and its phylogenetic significance // Acta Zool. 1991. V. 72. № 1. P. 7–28.

Peck L.S., Rhodes M.L., Curry G.B. et al. Physiology // Treatise on invertebrate paleontology, Part H: Brachiopoda (revised). V. 1: Introduction. Lawrence, Kans.: Univ. of Kansas Press. 1997. P. 213–240.

Percival E. A contribution to the life-history of the brachiopod *Tegulorhynchia nigricans* // J. Cell Sci. 1960. V. s3-101. P. 439–457.

Plandin F.A., Temereva E.N. Anatomy of the coelomic system in *Novocrania anomala* (Brachiopoda, Craniiformea) and relationships within brachiopods // Zoology. 2021. V. 144. Art. ID 125884. https://doi.org/10.1016/j.zool.2020.125884

Pross A. Untersuchungen zur Gliederung von *Lingula anatina* (Brachiopoda). Archimerie bei Brachiopoden // Zool. Jahrb. Abt. Anat. Ontog. Tiere. 1980. V. 103. P. 250–263.

Reed C.G., Cloney R.A. Brachiopod tentacles: Ultrastructure and functional significance of the connective tissue and myoepithelial cells in *Terebratalia* // Cell Tissue Res. 1977. V. 185. P. 17–42.

Robinson J. The muscles, body wall and valve-opening mechanism of extant craniid (inarticulated) brachiopods // J. Nat. Hist. 2014. V. 48. P. 1231–1252.

Rudwick M.J.S. Living and fossil brachiopods. London: Hutchinson and Co. Ltd. 1970. 199 p.

Storch V., Welsch U. Elektronenmikroskopische und enzymhistochemische untersuchungen über lophophor und tentakel von *Lingula unguis* L. (Brachiopoda) // Zool. Jahrb., Abt. Anat. Ontog. Tiere. 1976. V. 96. P. 225–237.

Temereva E.N. Organization of the coelomic system in *Phoronis australis* (Lophotrochozoa: Phoronida) and consideration of the coelom in the lophophorates // J. Zool. 2015. V. 296. № 2. P. 79–94.

Temereva E.N. Ultrastructure of the coelom in the brachiopod *Lingula anatina* // J. Morphol. 2017. V. 278. P. 997–1011.

Temereva E.N., Gebruk A.A., Malakhov V.V. Demonstration of the preoral coelom in the brachiopod *Lingula anatina* with consideration of its phylogenetic significance // Zool. Anz. 2015. V. 256. P. 22–27.

Temereva E.N., Malakhov V.V. Organization of the epistome in *Phoronopsis harmeri* (Phoronida) and consideration of the coelomic organization in Phoronida // Zoomorphology. 2011. V. 130. Art. ID 121. https://doi.org/10.1007/s00435-011-0126-z

Williams A., Carlson S.J. Affinities of brachiopods and trends in their evolution // Treatise on Invertebrate Paleontology, Part H: Brachiopoda (revised). V. 6: Supplement. Lawrence, Kans.: Univ. of Kansas Press. 2007. P. 2822–2877.

Williams A., Carlson S.J., Brunton C.H.C. et al. A supra-ordinal classification of the Brachiopoda // Philos. Trans. R. Soc., B. 1996. V. 351. P. 1171–1193.

Williams A., James M.A., Emig C.C. et al. Anatomy // Treatise on Invertebrate Paleontology, Part H: Brachiopoda (revised). V. 1: Introduction. Lawrence, Kans.: Univ. of Kansas Press. 1997. P. 7–188.

Organization of the Lophophore Coelomic System in the Brachiopod *Coptothyris grayi* (Davidson, 1852) (Brachiopoda: Terebratulida)

A. V. Ratnovskaya[a] and T. V. Kuzmina[a]

[a] *Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow 119234, Russia*

Plectolophous lophophore, an organ characteristic of the order Terebratulida, is the most complex type of lophophore in recent brachiopods. In the present paper, we provide the first 3D reconstruction of the coelomic system of the plectolophous lophophore using an example of the terebratulid brachiopod *Coptothyris grayi* (Davidson, 1852). We have found that this coelomic system consists of three entirely separated compartments. The first compartment includes a perioesophageal coelom, paired small and tentacle canals, and performs the transport and excretory functions. The second compartment consists of a pair of large coelomic canals of the lophophore that act as its hydrostatic skeleton. The third compartment is represented by a pair of brachial pouches connected with the perivisceral coelom, contain diverticula of the digestive gland, and allow the efficient use of the mantle cavity.

Keywords: coelom, Lophophorata, plectolophous lophophore, Brachiopoda

EDN: PZFZQK
БИОЛОГИЯ МОРЯ, 2022, том 48, № 4, с. 273–282

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

УДК 597.553.2.591.4.575.21

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ЯПОНСКОЙ МАЛОРОТОЙ КОРЮШКИ *HYPOMESUS NIPPONENSIS* MCALLISTER, 1963 (OSMERIFORMES, OSMERIDAE) ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА

© 2022 г. Н. С. Романов*

Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского (ННЦМБ) ДВО РАН, Владивосток 690041, Россия

**e-mail: n_romanov@inbox.ru*

Поступила в редакцию 13.12.2021 г.
После доработки 15.03.2022 г.
Принята к публикации 24.03.2022 г.

В 10 выборках японской малоротой корюшки *Hypomesus nipponensis* McAllister, 1963 исследовали внутри- и межпопуляционную изменчивость числа ветвистых лучей в грудных и брюшных плавниках, а также количества заглазничных и подглазничных костей. Для анализа в дополнение к средним значениям признаков использовали дисперсию флуктуирующей асимметрии и коэффициент вариации признаков, благодаря чему число различий между выборками увеличилось в несколько раз. Это позволило лучше оценить изменчивость не только внутри популяций, но и между ними, а также определить уровень морфологических отличий каждой выборки, подчеркнув ее уникальность. Предполагается, что главная причина большого числа различий между выборками по дисперсии флуктуирующей асимметрии и коэффициенту вариации заключается в несогласованности их величин между признаками в большинстве выборок.

Ключевые слова: японская малоротая корюшка, *Hypomesus nipponensis*, флуктуирующая асимметрия, коэффициент вариации, внутрипопуляционная и межпопуляционная изменчивость

DOI: 10.31857/S013434752204009X

Японская малоротая корюшка *Hypomesus nipponensis*, описанная Мак Алистером (McAllister, 1963) из оз. Онума (южная часть о-ва Хоккайдо), обитает в Японском море от низовьев р. Амур до Японии и Северной Кореи, в Охотском море – в прибрежных водах, озерах и реках о-ва Сахалин, а также южных Курильских островов (Клюканов, 1966, 1970; Гриценко, Чуриков, 1983; Saruwatari et al., 1997; Гриценко, 2002; Атлас ..., 2003; Сафронов, Никифоров, 2003; Заварзина, 2005) и в северных заливах Желтого моря (Chanxin, Kejing, 1987). Это самый мелкий представитель рода *Hypomesus*. Максимальный возраст *H. nipponensis* варьирует от 3+ в водах Приморья (Гриценко, 2002; Гавренков, Платошина, 2003) до 5+ на Сахалине (Заварзина, 2005) и южных Курильских островах (Сидоров, Пичугин, 2004). Длительность эмбриогенеза японской малоротой корюшки вместе с этапом предличинки при температуре воды 10 ± 2°C составляет 21.6 сут (Шадрин, 1989).

Морфология малоротых корюшек, в том числе японской, описана многими авторами (Клюканов, 1970, 1975; Гриценко, Чуриков, 1983; Парпура, Колпаков, 2001; Черешнев и др., 2001; Шедько, 2001; Гриценко, 2002; Ву, Картавцев, 2017, и др.), но популяционные аспекты в данных работах освещены лишь на уровне значений признаков. Известно, что в качестве популяционного показателя возможно использование флуктуирующей асимметрии признаков, которая является неспецифическим показателем условий развития; анализ этой величины применяется как в популяционных, так и мониторинговых исследованиях (Суле, 1984; Захаров, 1987; Parsons, 1992; Биотест..., 1993; Romanov, 1995; Романов, 2001; Романов, Скирин, 2011; Zakharov et al., 2020; Graham, 2021). По заключению Яблокова (1966, 1968) надежным показателем изменчивости служит также коэффициент вариации признаков, применяемый в популяционных исследованиях (Яблоков, 1966, 1968; Яблоков, Этин, 1968; Тимофеев-Ресовский и др., 1973).

Цель настоящей работы – проанализировать у японской малоротой корюшки внутри- и межпопуляционную изменчивость средних значений, дисперсий флуктуирующей асимметрии и коэффициентов вариации четырех легко учитываемых билатеральных признаков, чтобы доказать, что сравнение этих показателей даже по небольшому

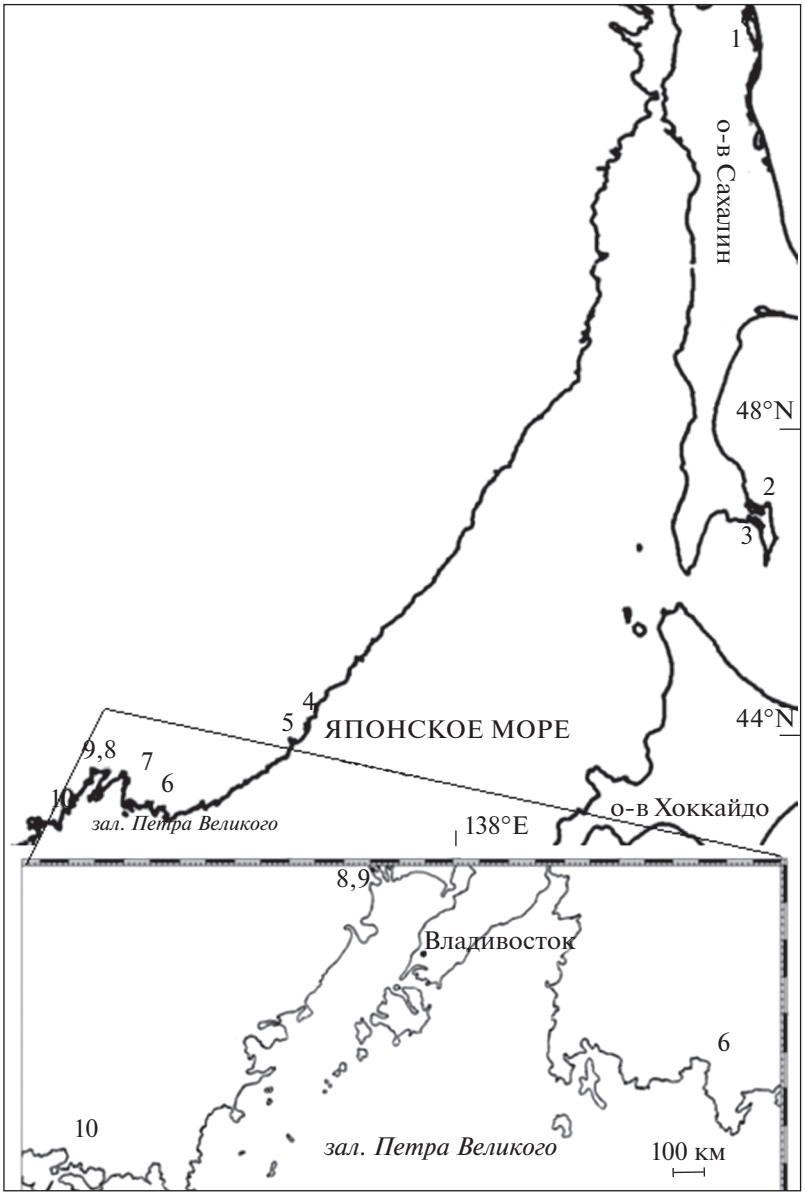

Рис. 1. Карта-схема района исследований и места сбора проб японской малоротой корюшки *Hypomesus nipponensis*: 1 – зал. Пильтун, 2 – оз. Тунайча, 3 – оз. Большой Вавай, 4 – оз. Пресное, 5 – р. Аввакумовка, 6 – р. Литовка, 7 – р. Артемовка, 8 – р. Раздольная, 2001 г., 9 – р. Раздольная, 2018 г., 10 – р. Тесная.

числу признаков демонстрирует уникальность каждой популяции.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материалом для работы послужили сборы японской малоротой корюшки в зал. Пильтун, озерах Тунайча и Большой Вавай в Сахалинской области, а также в оз. Пресное и реках Аввакумовка, Литовка, Артемовка, Раздольная и Тесная в Приморском крае (рис. 1; табл. 1). Анализировали легко учитываемые билатеральные признаки: число ветвистых лучей в грудных (*P*) и брюшных (*V*) плавниках, а также заглазничных (*porb*) и подглазничных (*iorb*) костей, по которым проходит подглазничный канал сейсмосенсорной системы головы. Подробно методика сбора и первичной обработки материала описана ранее (Романов, 2009, 2010).

Флуктуирующую асимметрию оценивали по дисперсии, которую рассчитывали по формуле, предложенной Палмером и Штробеком (Palmer, Strobeck, 1986):

$$\sigma_{\mathrm{d}}^2 = \mathrm{var}\left[\frac{A_i}{(R_i + L_i)/2}\right],$$

Таблица 1. Средние значения ($M \pm m$) (над чертой) и колебания значений признаков (под чертой) у японской малоротой корюшки *Hypomesus nipponensis*

Водоем	N, экз.	*P*	*V*	*porb*	*iorb*
1. Зал. Пильтун	40	11.13 ± 0.05 / 10–13	7.03 ± 0.018 / 7–8	3.96 ± 0.02 / 3–4	2.00 ± 0.00 / 2
2. Оз. Тунайча	100	11.29 ± 0.05 / 10–13	7.01 ± 0.007 / 7–8	4.01 ± 0.02 / 3–5	2.02 ± 0.014 / 2–3
3. Оз. Большой Вавай	85	11.86 ± 0.04 / 11–14	7.00 ± 0.01 / 6–8	3.99 ± 0.016 / 3–5	2.02 ± 0.014 / 2–3
4. Оз. Пресное	100	11.51 ± 0.04 / 10–13	7.00 ± 0.01 / 6–8	3.99 ± 0.016 / 3–5	2.02 ± 0.014 / 2–3
5. Р. Аввакумовка	88	11.73 ± 0.04 / 10–13	7.01 ± 0.01 / 6–8	3.98 ± 0.02 / 3–5	2.01 ± 0.007 / 2–3
6. Р. Литовка	100	11.82 ± 0.05 / 10–14	6.99 ± 0.01 / 6–8	3.98 ± 0.01 / 3–5	2.01 ± 0.01 / 2–3
7. Р. Артемовка	100	11.48 ± 0.05 / 10–13	7.01 ± 0.01 / 6–8	3.99 ± 0.02 / 3–5	2.02 ± 0.014 / 2–3
8. Р. Раздольная, 2001 г.	100	11.60 ± 0.04 / 9–12	7.01 ± 0.01 / 6–8	3.95 ± 0.02 / 3–5	2.02 ± 0.014 / 2–3
9. Р. Раздольная, 2018 г.	100	11.56 ± 0.04 / 10–13	7.00 ± 0.01 / 6–8	4.01 ± 0.014 / 3–5	2.03 ± 0.014 / 1–3
10. Р. Тесная	100	11.33 ± 0.04 / 10–13	7.01 ± 0.012 / 6–8	3.97 ± 0.02 / 2–5	2.02 ± 0.014 / 2–3

Примечание. N – объем выборки; *P* и *V* – число ветвистых лучей в грудных и брюшных плавниках соответственно; *porb* и *iorb* – число заглазничных и подглазничных костей соответственно.

где $A_i = (R_i - L_i)$: A_i – асимметрия *i*-той особи, R_i – значение признака справа, L_i – значение признака слева. Эта формула учитывает размерность признаков, что позволяет сравнивать уровень флуктуирующей асимметрии между признаками внутри выборки. Просуммировав дисперсии по всем признакам внутри каждой выборки, получаем интегральную оценку флуктуирующей асимметрии, по которой можно сравнить разные выборки между собой. Для определения достоверности отличий по значению *F*-критерия необходимыми условиями являются наличие нормального распределения сравниваемых выборок по дисперсии, а также размер выборки более 40 экз. (Плохинский, 1970). Распределение в исследованных выборках не было нормальным, второе условие также не всегда соблюдалось, поэтому был применен метод Шеффе–Бокса с нормализующим преобразованием Бокса–Кокса (Sokal, Rohlf, 1981; Palmer, Strobeck, 1986; Graham et al., 1993). Для преобразования использовали формулу $d' = (|d| + 0.00005)^{0.33}$, где $d = R - L$; затем при расчислении дисперсии флуктуирующей асимметрии признака в основной формуле A_i заменяли на d'.

Изменчивость признаков оценивали также по коэффициенту вариации, который вычисляли по формуле: $CV = 100\sigma/M$, где σ – среднее квадратическое отклонение, а M – среднее арифметическое значение признака. Ошибку коэффициента вариации вычисляли по формуле:

$$s_{cv} = \frac{CV}{\sqrt{n}}\sqrt{0.5 + \left[\frac{CV}{100}\right]^2}.$$

Достоверность отличий средних значений (M) и коэффициентов вариации признаков определяли по величине *t*-критерия Стьюдента (Плохинский, 1970). Размах изменчивости показателей рассчитывали как разницу между минимумом и максимумом. Под размерностью того или иного признака понимали величину оценки признака, в данном случае – среднее арифметическое значение для всех использованных особей. Связь между параметрами оценивали с помощью непараметрического коэффициента корреляции Спирмена (r_s) (Поллард, 1982), а тесноту связи – по шкале Чеддока (Сиденко и др., 2011). Для обра-

Таблица 2. Различия между выборками японской малоротой корюшки *Hypomesus nipponensis* по средним значениям (M) числа ветвистых лучей в грудных плавниках (*P*)

	M									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1		*P**	*P****	*P****	*P****	*P****	*P***	*P****	*P****	*P***
2	–		*P****	*P****	*P****	*P****	*P***	*P****	*P****	–
3	–	–		*P****	*P**	–	*P****	*P****	*P****	*P****
4	–	–	–		*P****	*P****	–	–	–	*P***
5	–	–	–	–		–	*P****	*P**	*P***	*P****
6	–	–	–	–	–		*P****	*P****	*P****	*P****
7	–	–	–	–	–	–		–	–	*P**
8	–	–	–	–	–	–	–		–	*P****
9	–	–	–	–	–	–	–	–		*P****
10	–	–	–	–	–	–	–	–	–	

Примечание. Номера выборок, как в табл. 1; различия достоверны при *p*: * – < 0.05, ** – < 0.01, *** – < 0.001; “–” – различия недостоверны.

ботки данных применяли статистическую программу Systat 5.0 (Wilkinson et al., 1992a, 1992b).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Межпопуляционная изменчивость значений признаков

Число ветвящихся лучей в грудных плавниках исследованных рыб варьировало от 9 до 14 (табл. 1). Наименьшее среднее значение отмечено для самой северной популяции зал. Пильтун, этот показатель постепенно увеличивался в выборках корюшки к югу до р. Литовка и заметно уменьшался в выборках рыб из рек Артемовка, Раздольная и Тесная. При попарном сравнении отмечено 37 достоверных различий между выборками корюшки. В наибольшей степени от других выборок отличались сахалинские выборки из зал. Пильтун и оз. Тунайча, а также приморские выборки из рек Аввакумовка и Раздольная (2018 г.) (табл. 2).

По остальным трем признакам различия между выборками были недостоверны. В брюшных плавниках корюшки число лучей варьировало от 6 до 8. Количество заглазничных костей изменялось от 2 до 5; наименьшее среднее значение отмечено для выборки из р. Раздольная (2001 г.), а наибольшее – для выборок из оз. Тунайча и р. Раздольная (2018 г.). Число подглазничных костей в большинстве выборок колебалось в диапазоне 2–3, но в выборке 2018 г. из р. Раздольная этот показатель изменялся от 1 до 3, а в выборке из зал. Пильтун у всех исследованных рыб он был равен 2. Минимальное среднее значение отмечено для самой северной выборки (зал. Пильтун), а максимальное – для южной выборки из р. Раздольная в 2018 г. (табл. 1).

Размах изменчивости значений признаков был разным и составил 4 для числа лучей в грудных плавниках и 2 – брюшных; 3 – для числа заглазничных костей и 2 – для подглазничных. Сравнение этих величин с числом отмеченных различий между популяциями демонстрирует положительную связь (r_s = 0.950, p < 0.05, теснота связи весьма высокая), так как, чем больше размах изменчивости, тем выше вероятность достоверных различий между выборками.

Изменчивость флуктуирующей асимметрии

Анализ средних значений дисперсии флуктуирующей асимметрии исследованных признаков показал, что минимальное значение характерно для числа лучей в брюшных плавниках, по остальным признакам этот показатель достоверно увеличивается в ряду: число лучей в грудных плавниках – число заглазничных костей – число подглазничных костей. Подобная закономерность характеризует выборки из оз. Большой Вавай и рек Артемовка, Раздольная (2018 г.) и Тесная. Для остальных выборок отмечены особенности: выборка из зал. Пильтун показала нулевое значение дисперсии флуктуирующей асимметрии числа подглазничных костей; выборки из озер Тунайча и Пресное, а также из р. Раздольная (2001 г.) не имели достоверных различий по числу заглазничных и подглазничных костей; в выборке из р. Аввакумовка дисперсии числа лучей в грудных и брюшных плавниках достоверно не различались, а дисперсия числа заглазничных костей была достоверно больше, чем числа подглазничных; эта же особенность отмечена и у корюшки из р. Литовка (табл. 3).

Таблица 3. Дисперсия флуктуирующей асимметрии/10^3 некоторых признаков у японской малоротой корюшки *Hypomesus nipponensis*

Водоем	*P*	*V*	*porb*	*iorb*	Сумма
1. Зал. Пильтун	1.398	0.777	5.292	0.000	7.467
2. Оз. Тунайча	1.168	0.162	5.127	5.573	12.030
3. Оз. Большой Вавай	1.320	0.441	4.766	6.509	13.036
4. Оз. Пресное	1.089	0.737	5.758	5.573	13.157
5. Р. Аввакумовка	0.852	0.671	6.056	3.261	10.840
6. Р. Литовка	1.330	0.894	6.097	2.873	11.194
7. Р. Артемовка	1.390	0.621	6.429	15.367	23.807
8. Р. Раздольная, 2001 г.	1.469	0.376	10.759	8.221	20.825
9. Р. Раздольная, 2018 г.	1.116	0.745	4.235	13.389	19.485
10. Р. Тесная	1.344	0.737	6.114	13.078	21.273
Среднее значение	1.248	0.616	6.005	7.874	–

Примечание. Обозначения признаков, как в табл. 1.

Минимальное значение (0.852) дисперсии количества лучей в грудных плавниках отмечено для выборки из р. Аввакумовка (табл. 3), которая по этому показателю достоверно отличалась от семи выборок (табл. 4). Различия между выборками по дисперсии флуктуирующей асимметрии числа лучей в брюшных плавниках была намного больше (23 достоверных различия). По этому показателю больше всего от других выборок отличались выборки из озер Тунайча и Большой Вавай, а также из р. Раздольная (2001 г.); остальные выборки отличались незначительно. Различия по дисперсии флуктуирующей асимметрии числа заглазничных костей между выборками корюшки были значительно меньше и достоверны в 13 случаях. Больше всего от других выборок достоверно отличалась выборка из р. Раздольная (2001 г.), а меньше всего отличались выборки из зал. Пильтун и озер Тунайча и Большой Вавай. Дисперсия флуктуирующей асимметрии числа подглазничных костей изменялась от 0 в выборке из зал. Пильтун до 15.367 в выборке из р. Артемовка (табл. 3) и показала максимальные различия между выборками. От наибольшего числа выборок достоверно отличались выборки из зал. Пильтун и рек Аввакумовка, Литовка и Раздольная (2001 г.), а от наименьшего количества выборок отличалась выборка из оз. Большой Вавай (табл. 4).

По дисперсии флуктуирующей асимметрии хотя бы одного признака достоверно различались между собой девять выборок, но между выборками из рек Артемовка и Тесная достоверные различия по этому параметру отсутствовали (табл. 4). По сумме отличий по дисперсии по всем признакам наибольшим числом достоверных отличий от других выборок выделялись выборки из рек Раздольная (2001 г.) и Аввакумовка, а наименьшим – выборки из оз. Пресное и р. Тесная (табл. 4).

Количество различий между выборками по дисперсии флуктуирующей асимметрии числа лучей в грудных плавниках было наименьшим (7), заглазничных костей – 13, лучей в брюшных плавниках – 23 и подглазничных костей – 37. Сравнивая эти показатели с размерностью признаков, получаем обратную зависимость ($r_s = -0.800$, $p < 0.05$, сила связи высокая). От других выборок меньше всего отличалась выборка из оз. Пресное – 12 отличий, а больше всего – выборка из р. Раздольная (2001 г.), для которой отмечены 26 достоверных отличий (табл. 4).

Изменчивость коэффициентов вариации признаков

По результатам анализа средних значений коэффициентов вариации признаков минимальное значение этого параметра характерно для числа ветвистых лучей в брюшных плавниках (табл. 5); для числа лучей в грудных плавниках и заглазничных костей этот показатель достоверно больше, но различия между средними значениями коэффициентов вариации этих двух признаков недостоверны. Наибольшее среднее значение коэффициента вариации отмечено для числа подглазничных костей. Такая закономерность характерна для выборок из озер Большой Вавай и Пресное, а также рек Артемовка и Раздольная (2018 г.). Однако выборка из зал. Пильтун отличается нулевым значением коэффициента вариации для числа подглазничных костей; в выборках из оз. Тунайча и рек Тесная, Аввакумовка и Раздольная (2001 г.) коэффициент вариации числа ветвистых лучей в грудных плавниках достоверно меньше коэффициента для числа заглазничных костей. Кроме того, в выборках из рек Аввакумовка и Раздольная (2001 г.) коэффициент вариации числа заглазничных костей больше, чем числа подглазничных; в выбор-

Таблица 4. Значимые различия между выборками японской малоротой корюшки *Hypomesus nipponensis* по дисперсии флуктуирующей асимметрии (DFA) и коэффициентам вариации признаков (CV)

CV	DFA 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1		*V****, *iorb****	*V***, *iorb****	*iorb****	*P**, *iorb****	*iorb****	*iorb****	*V***, *porb***, *iorb****	*iorb****	*iorb****
2	*V****, *porb**, *iorb****		*V****	*V****	*P**, *V****, *iorb***	*V****, *iorb****	*V****, *iorb****	*V****, *porb****, *iorb**	*V****, *iorb***	*V****, *iorb****
3	*V***, *iorb****	*V****		*V***	*P**, *V**, *iorb***	*V****, *iorb****	*V**, *iorb****	*porb****	*V****, *iorb****	*V***, *iorb****
4	*iorb****	*V****	*V****		*iorb***	*iorb****	*iorb****	*V****, *porb****, *iorb**	*porb**, *iorb****	*iorb****
5	*porb****, *iorb****	*V****, *porb***, *iorb****	*V**, *porb****, *iorb****	*porb****, *iorb****		*P***	*P***, *iorb****	*P***, *V***, *porb***, *iorb****	*porb**, *iorb****	*P***, *iorb****
6	*P****, *iorb***	*P****, *V****, *porb****, *iorb****	*P****, *V****, *porb***, *iorb****	*P****, *porb****, *iorb****	*P****, *V***, *porb****		*iorb****	*V**** *porb*** *iorb****	*porb**, *iorb****	*iorb****
7	*P**, *porb**, *iorb****	*P**, *V****, *porb****, *iorb****	*V***, *porb**, *iorb****	*iorb****	*porb**, *iorb****	*P**, *V**, *porb****, *iorb****		*V***, *porb***, *iorb****	*porb**	–
8	*porb****, *iorb****	*V****, *porb****, *iorb****	*V****, *porb***, *iorb****	*porb****, *iorb****	–	*P****, *porb****	*porb***, *iorb****		*V****, *porb****, *iorb***	*V***, *porb***, *iorb***
9	*iorb****	*V****, *porb**, *iorb****	*V****, *iorb****	*iorb****	*porb****, *iorb****	*P****, *porb***, *iorb****	*porb***	*porb****, *iorb****		*porb**
10	*porb****, *iorb****	*V****, *porb**, *iorb****	*V****, *porb****, *iorb****	*V***, *porb***, *iorb****	*V****, *iorb****	*P***, *porb****, *iorb****	*V****, *iorb***	*V***, *iorb****	*V***, *porb***, *iorb****	

Примечание. Верхняя правая часть таблицы – различия по DFA, нижняя левая часть таблицы – различия по CV. Номера выборок и обозначение признаков, как в табл. 1; степень достоверности, как в табл. 2.

ке из р. Литовка коэффициент для числа ветвистых лучей в грудных плавниках больше, чем коэффициенты для числа подглазничных и заглазничных костей (табл. 5).

Коэффициент вариации числа лучей в грудных плавниках корюшки колеблется в небольших пределах, наименьшее его значение отмечено для самой северной выборки (зал. Пильтун), а наибольшее – для одной из южных выборок (р. Литовка). По этому коэффициенту выборки корюшки достоверно различаются между собой в 11 случаях: от всех других отличается выборка из р. Литовка, а выборка из р. Артемовка отличается от выборок из зал. Пильтун и оз. Тунайча (табл. 4). Размах изменчивости коэффициента вариации числа ветвистых лучей в брюшных плавниках корюшки несколько меньше. Минимальное значение отмечено для одной из самых северных выборок (оз. Тунайча), а максимальное – для самой южной выборки из р. Тесная (табл. 5). По этому коэффициенту выборки корюшки достоверно различаются между собой в 24 случаях. Выборки из озер Тунайча и Большой Вавай демонстрируют по девять различий, а выборка зал. Пильтун показывает два различия (табл. 4). Размах изменчивости

Таблица 5. Коэффициенты вариации значений некоторых признаков у японской малоротой корюшки *Hypomesus nipponensis*

Водоем	*P*	*V*	*porb*	*iorb*	Сумма
1. Зал. Пильтун	4.40 ± 0.35	2.23 ± 0.18	4.80 ± 0.38	0.00 ± 0.00	11.43
2. Оз. Тунайча	4.58 ± 0.23	1.01 ± 0.05	5.86 ± 0.29	6.93 ± 0.35	18.38
3. Оз. Большой Вавай	4.79 ± 0.26	1.56 ± 0.08	5.09 ± 0.28	7.52 ± 0.41	18.96
4. Оз. Пресное	4.95 ± 0.25	2.00 ± 0.10	5.51 ± 0.28	6.93 ± 0.35	19.39
5. Р. Аввакумовка	4.93 ± 0.26	1.87 ± 0.10	7.20 ± 0.39	5.28 ± 0.28	19.28
6. Р. Литовка	6.47 ± 0.32	2.26 ± 0.11	3.98 ± 0.20	4.96 ± 0.25	17.67
7. Р. Артемовка	5.46 ± 0.30	1.90 ± 0.10	6.09 ± 0.33	10.54 ± 0.58	23.99
8. Р. Раздольная 2001 г.	4.90 ± 0.25	2.01 ± 0.10	7.70 ± 0.39	5.03 ± 0.25	19.64
9. Р. Раздольная 2018 г.	4.76 ± 0.24	2.00 ± 0.10	4.99 ± 0.25	9.85 ± 0.50	21.60
10. Р. Тесная	5.24 ± 0.26	2.47 ± 0.12	6.85 ± 0.34	13.08 ± 0.67	27.64
Среднее значение	5.05 ± 0.18	1.93 ± 0.11	5.81 ± 0.37	7.01 ± 0.39	–

коэффициента вариации числа заглазничных костей находится в диапазоне от 3.9 до 7.7 (табл. 5); наименьшим (р. Литовка) и наибольшим (р. Раздольная, 2001 г.) значениями характеризуются южные выборки корюшки. Зафиксировано 30 достоверных различий между выборками. Выборка из р. Литовка отличается от всех остальных выборок, за исключением выборки из зал. Пильтун; от семи из исследованных выборок отличаются выборки из рек Аввакумовка и Раздольная (2001 г.). Выборки разных лет из р. Раздольная также различаются по этому параметру (табл. 4). Наибольший размах изменчивости коэффициента вариации отмечен для числа подглазничных костей – от нулевого значения (зал. Пильтун) до максимального в выборке из р. Тесная, самой южной из исследованных популяций (табл. 5). В 38 случаях выборки корюшки достоверно различались между собой по коэффициенту вариации этого признака. Выборки из зал. Пильтун и р. Тесная показали по девять, из рек Артемовка и Раздольная (2018 г.) – по восемь, а все остальные выборки – по семь различий. Как и в предыдущем случае, выборки разных лет из р. Раздольная различались между собой.

Почти все исследованные выборки достоверно различались между собой по коэффициентам вариации хотя бы одного признака; исключение составили выборки из рек Аввакумовка и Раздольная (2001 г.), различия между которыми оказались недостоверны. По сумме коэффициентов вариации всех признаков выборка из зал. Пильтун демонстрирует минимальное, а из р. Тесная – максимальное значение этого показателя; выборки из р. Раздольная за разные годы не различаются (табл. 5). Сопоставление размерности признаков с числом различий между выборками по коэффициентам вариации признаков обнаруживает обратную зависимость между ними ($r_s = -1.00$, $p < 0.01$, сила связи функциональная).

ОБСУЖДЕНИЕ

Между выборками японской малоротой корюшки из разных популяций отмечено 36 достоверных различий по средним значениям числа лучей в грудных плавниках. В девяти попарных сравнениях выборки не различались между собой. Применение для анализа морфологической изменчивости не только средних значений признаков, но и дисперсий флуктуирующей асимметрии признаков (80 различий) и коэффициентов их вариации (103 различия) увеличило количество различий между выборками до 219. Главная причина этого заключается в несогласованности дисперсий асимметрии и коэффициентов вариации между признаками в большинстве выборок, что служит подтверждением уникальности каждой выборки. Анализ дисперсии флуктуирующей асимметрии и коэффициента вариации признаков показал, что только в четырех случаях из 10 соотношение этих внутрипопуляционных показателей соответствует соотношению, характерному для средних (видовых) значений. Только для трех выборок эти соотношения схожи, как для дисперсии, так и для коэффициента вариации. Для остальных выборок отмечена несогласованность по обоим показателям, которая подтверждается отсутствием статистически значимой связи на популяционном уровне между средними значениями признаков и значениями дисперсий асимметрии и коэффициентов вариации. Статистически значимая связь не была обнаружена и при попытке найти зависимость между значениями дисперсии асимметрии или коэффициентом вариации признаков и числом различий по этим показателям.

Таким образом, применение дисперсии флуктуирующей асимметрии и коэффициента вариации в дополнение к средним значениям признаков позволяет лучше оценить как внутри-, так и межпопуляционную изменчивость, т.е. уровень морфологических отличий каждой выборки, подчеркнув тем самым ее уникальность. Нельзя не отметить следующую закономерность: чем больше размах изменчивости того или иного показателя, тем больше достоверных различий обнаруживается между выборками, что согласуется с мнением некоторых авторов, высказанным ранее в отношении коэффициентов вариации признаков (Яблоков, 1966; Соболевский, 1988).

Сравнение суммы дисперсий всех проанализированных признаков выборки (табл. 3) показало высокий уровень этого показателя у малоротой корюшки из самых южных водоемов – рек Артемовка, Раздольная (2001, 2018 гг.) и Тесная, находящихся под мощным антропогенным прессом (Шулькин, Семыкина, 2005; Никулина, 2006; Кику, Ковековдова, 2008). Для северных местообитаний значения суммы дисперсий значительно меньше. Это может указывать на более высокую стабильность развития корюшки северных популяций, обеспеченную оптимальными условиями эмбрионального и раннего постэмбрионального развития. Выборки корюшки разных лет из р. Раздольная по величине данного показателя не различаются, что может говорить об одинаковом общем уровне воздействия на эмбриогенез и ранний постэмбриогенез корюшки выборок 2001 и 2018 гг.

Однако достоверные различия, отмеченные между выборками корюшки из р. Раздольная в разные годы по дисперсии флуктуирующей асимметрии и коэффициенту вариации анализируемых признаков (по трем и двум признакам соответственно), хорошо согласуются с заключением А.В. Яблокова о том, что “изменчивость даже одного и того же признака оказывается различной в разные сезоны, годы, в разных популяциях вида” (Яблоков, 1968, с. 1755). Каждая популяция адаптирована к определенным условиям обитания, которые могут меняться в разные годы, и реакция развивающихся организмов на эти условия может быть разной, что находит отражение в использованных для анализа параметрах.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

БЛАГОДАРНОСТИ

Считаю своим приятным долгом поблагодарить за помощь в сборе материала С.В. Фролова и П.А. Савельева (ННЦМБ ДВО РАН), С.Н. Сафронова (СахГУ), Н.К. Заварзину (Сахалинский филиал ВНИРО) и Ю.И. Гавренкова (Тихоокеанский филиал ВНИРО).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Атлас пресноводных рыб России. М.: Наука. 2003. Т. 1. 379 с.

Биотест: интегральная оценка здоровья экосистем и отдельных видов. М.: Московское отд. МФ “Биотест”. 1993. 68 с.

Ву К.Т., Картавцев Ю.Ф. Морфометрические различия малоротых корюшек *Hypomesus japonicus* (Brevoort, 1856) и *H. nipponensis* (McAllister, 1963) (Pisces, Osmeridae) из северо-западной части Японского моря // Биол. моря. 2017. Т. 43. № 6. С. 403–412.

Гавренков Ю.И., Платошина Л.К. Биология и экология размножения малоротых корюшек рода *Hypomesus* (Osmeridae) Приморья // Чтения памяти В.Я. Леванидова. Владивосток: Дальнаука. 2003. Вып. 2. С. 425–435.

Гриценко О.Ф. Проходные рыбы острова Сахалин. Систематика, экология, промысел. М.: Изд-во ВНИРО. 2002. 247 с.

Гриценко О.Ф., Чуриков А.А. Систематика малоротых корюшек рода *Hypomesus* (Salmoniformes, Osmeridae) Азиатского побережья Тихого океана // Зоол. журн. 1983. Т. 52. Вып. 4. С. 553–563.

Заварзина Н.К. О методике определения возраста и размерно-возрастных особенностях малоротых корюшек рода *Hypomesus* острова Сахалин // Чтения памяти В.Я. Леванидова. Владивосток: Дальнаука. 2005. Вып. 3. С. 585–593.

Захаров В.М. Асимметрия животных. М.: Наука. 1987. 216 с.

Кику Д.П., Ковековдова Л.Т. Сравнительная оценка содержания микроэлементов в двустворчатых моллюсках из Уссурийского и Амурского заливов // Уссурийский залив: современное экологическое состояние, ресурсы и перспективы природопользования. Материалы международ. научно-практ. конф. Владивосток: Изд-во ДВГУ. 2008. С. 94–98.

Клюканов В.А. Новые данные о распространении малоротых корюшек в водах СССР // Докл. АН СССР. 1966. Т. 166. № 4. С. 990–991.

Клюканов В.А. Морфологические основы систематики корюшек рода *Hypomesus* (Osmeridae) // Зоол. журн. 1970. Т. 49. Вып. 10. С. 1534–1541.

Клюканов В.А. Систематика и родственные отношения корюшек родов *Osmerus* и *Hypomesus* (Osmeridae) и их расселение // Зоол. журн. 1975. Т. 54. Вып. 4. С. 590–595.

Никулина Т.В. Оценка экологического состояния р. Раздольная по составу индикаторных видов водорослей // Вестн. ДВО РАН. 2006. № 6. С. 71–78.

Парпура И.З., Колпаков Н.В. Биология и внутривидовая дифференциация корюшек Приморья // Чтения памяти В.Я. Леванидова. Владивосток: Дальнаука. 2001. Вып. 1. С. 284–295.

Плохинский Н.А. Биометрия. М.: Изд-во МГУ. 1970. 367 с.

Поллард Дж. Справочник по вычислительным методам статистики. М.: Финансы и статистика. 1982. 344 с.

Романов Н.С. Флуктуирующая асимметрия лососей заводского и естественного воспроизводства // Чтения памяти В.Я. Леванидова. Владивосток: Дальнаука. 2001. Вып. 1. С. 328–335.

Романов Н.С. Флуктуирующая асимметрия некоторых признаков у симы *Oncorhynchus masou* (Salmonidae) // Вестн. Северо-Восточ. науч. центра. 2009. № 1. С. 62–67.

Романов Н.С. Флуктуирующая асимметрия некоторых признаков у морской малоротой корюшки *Hypomesus japonicus* (Osmeridae) // Вестн. Северо-Восточ. науч. центра. 2010. № 3. С. 37–43.

Романов Н.С., Скирин В.И. Морфологическая изменчивость некоторых осетровых рыб и их искусственных гибридов // Изв. ТИНРО. 2011. Т. 165. С. 283–296.

Сафронов С.Н., Никифоров С.Н. Список рыбообразных и рыб пресных и солоноватых вод Сахалина // Вопр. ихтиологии. 2003. Т. 43. № 1. С. 42–53.

Сиденко А.В., Вишняков В.В., Исаев С.М. Теория статистики. М.: МАКС-Пресс. 2011. 343 с.

Сидоров Л.К., Пичугин М.Ю. Морфологические особенности озерных форм малоротой корюшки рода *Hypomesus* (Salmoniformes) южных Курильских островов // Вопр. ихтиологии. 2004. Т. 44. № 4. С. 484–495.

Соболевский Е.И. Популяционная морфология ластоногих. Изменчивость и пространственная структура вида. М.: Наука. 1988. 216 с.

Суле М. Алломерическая изменчивость: теория и следствие // Журн. общ. биол. 1984. Т. XLV. № 1. С. 16–26.

Тимофеев-Ресовский Н.В., Яблоков А.В., Глотов Н.В. Очерк учения о популяции. М.: Наука. 1973. 278 с.

Черешнев И.А., Шестаков А.В., Фролов С.В. К систематике малоротых корюшек рода *Hypomesus* (Osmeridae) залива Петра Великого Японского моря // Биол. моря. 2001. Т. 27. № 5. С. 340–346.

Шадрин А.М. Эмбрионально-личиночное развитие корюшковых (Osmeridae) Дальнего Востока. IV. *Hypomesus nipponensis* // Вопр. ихтиологии. 1989. Т. 29. № 6. С. 960–972.

Шедько С.В. О видовом составе корюшек (Osmeridae) в водах Приморья // Вопр. ихтиологии. 2001. Т. 41. № 2. С. 261–264.

Шулькин В.М., Семыкина Г.В. Сезонная и многолетняя изменчивость содержания и выноса биогенных соединений р. Раздольной (Приморский край) // Вод. ресурсы. 2005. Т. 32. № 5. С. 575–583.

Яблоков А.В. Изменчивость млекопитающих. М.: Наука. 1966. 364 с.

Яблоков А.В. Популяционная морфология животных // Зоол. журн. 1968. Т. 47. № 12. С. 1749–1765.

Яблоков А.В., Этин В.Я. Изменчивость меристических признаков нутрии (*Myocastor coypus* Mol.) Азербайджана и Таджикистана // Зоол. журн. 1968. Т. 47. № 1. С. 116–121.

Chanxin L., Kejing Q. Fauna Liaoningica. Pisces. Shenyang: Liaoning Science and Technology Press. 1987. 552 p.

Graham J.H. Fluctuating asymmetry and developmental instability, a guide to best practice // Symmetry. 2021. V. 13. Art. ID 9. https://doi.org/10.3390/sym13010009

Graham J., Freeman D.C., Emlen J. Antisymmetry, directional asymmetry, and dynamic morphogenesis // Genetica. 1993. V. 89. № 1–3. P. 121–137.

McAllister D.E. A revision of the smelt family, Osmeridae // Bulletin of the National Museum of Canada № 191. Ottawa: National Museum of Canada. 1963.

Palmer A.R., Strobeck C. Fluctuating asymmetry: measurement, analysis, patterns // Annu. Rev. Ecol. Syst. 1986. № 17. P. 391–421.

Parsons P.A. Fluctuating asymmetry: a biological monitor of environmental and genomic stress // Heredity. 1992. V. 68. P. 361–364.

Romanov N.S. Fluctuating asymmetry in chum salmon, *Oncorhynchus keta*, from the Maritime Province // J. Ichthyol. 1995. V. 35. № 9. P. 171–182.

Saruwatari T., Lopez J.A., Pietsch T.W. A revision of the osmerid genus *Hypomesus* Gill (Teleostei: Salmoniformes), with the description of a new species from the Southern Kuril Islands // Species Diversity. 1997. V. 2. № 1. P. 59–82.

Sokal R.R., Rohlf F.J. Biometry. New York: Freeman & Co. 1981. 859 p.

Wilkinson L., Hill M.-A., Welna J.P., Birkenbeuel G.K. SYSTAT for Windows: statistics, Version 5. Evanston, Ill.: Systat Inc. 1992a. 750 p.

Wilkinson L., Hill M.-A., Miceli S. et al. SYSTAT for Windows: graphics. Version 5. Evanston, Ill.: Systat Inc. 1992b. 636 p.

Zakharov V.M., Shadrina E.G., Trofimov I.E. Fluctuating asymmetry, developmental noise and developmental stability: future prospects for the population developmental biology approach // Symmetry. 2020. 12(8). 1376. https://doi.org/10.3390/sym12081376

Morphological Variability of the Japanese Smelt *Hypomesus nipponensis* McAllister, 1963 (Osmeriformes, Osmeridae) from the Far East

N. S. Romanov

A.V. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok 690041, Russia

Intra- and inter-population variability in the number of soft rays of pectoral and ventral fins and in the number of postorbital and infraorbital bones was studied using 10 samples of Japanese smelt, *Hypomesus nipponensis* McAllister, 1963. In addition to mean values of these characters, such parameters as variance of fluctuating asymmetry and coefficient of variation of the characters were also used, which eventually increased the number of differences between the samples multifold. This allowed better assessment of both intra- and inter-population variability and also determination of the level of morphological differences for each sample, thereby, emphasizing its uniqueness. The major explanation for the large number of differences in the variance of fluctuating asymmetry and the coefficient of variation between the samples can be the inconsistency of their values between the characters in most samples.

Keywords: Japanese smelt, *Hypomesus nipponensis*, fluctuating asymmetry, coefficient of variation, intra- and inter-population variability

EDN: BMYZJX
БИОЛОГИЯ МОРЯ, 2022, том 48, № 4, с. 283–288

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 581.526.323 (477.75)

ЗАРОСЛИ ВЗМОРНИКА (РОД *ZOSTERA* LINNAEUS, 1753) И СВЯЗАННАЯ С НИМИ СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ФОРМА ДОННОГО МИКРОРЕЛЬЕФА У ЮЖНОГО БЕРЕГА КРЫМА (ЧЕРНОЕ МОРЕ)

© 2022 г. С. Е. Садогурский[1, *], С. А. Садогурская[1], Т. В. Белич[1]
[1]*Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН, Ялта 298648, Россия*
**e-mail: ssadogurskij@yandex.ru*

Поступила в редакцию 08.11.2021 г.
После доработки 11.01.2022 г.
Принята к публикации 31.01.2022 г.

Приведены полученные на основе мониторинга сведения об изменении состояния зарослей морских трав рода *Zostera* Linnaeus, локализованных на глубине от 5.5 до 10.5 м в границах прибрежной акватории заповедника “Мыс Мартьян” (Южный берег Крыма, Черное море). Осенью 2020 г. их фрагменты (куртины) имели признаки размыва грунта, сопровождавшегося значительным обнажением корней и корневищ морских трав, а также развитием на них обильного эпифитона. Впервые зарегистрирована специфическая форма донного микрорельефа, локализация которой связана с распределением растительности. Это многочисленные микродепрессии в рыхлых отложениях, характеризующиеся правильной округлой формой и заглублением в грунт на 10–15 см. Диаметр микродепрессий был сопоставим с размерами куртин, к которым они примыкали строго с северо-западной стороны. Микродепрессии были заполнены временными скоплениями неприкрепленных макроводорослей. Дальнейшие наблюдения выявили обратимость данного явления. Обсуждаются его причины, связанные, вероятно, с повышением локальной гидродинамики, и влияние на донную растительность рыхлых грунтов.

Ключевые слова: Черное море, Крым, мыс Мартьян, фитобентос, *Zostera*, макроводоросли, структура, распределение, микрорельеф

DOI: 10.31857/S0134347522040106

Территориально-аквальный комплекс у мыса Мартьян, расположенный на Южном берегу Крыма (ЮБК), заповедан около полувека назад (с 1973 г. в статусе государственного природного заповедника, а ныне функционирует как природный парк). Он включает 120 га прибрежной акватории Черного моря, на которой с момента организации комплекса ведется изучение макрофитобентоса (Крайнюк, Маслов, 2012). В настоящее время среди территориально-аквальных заповедников Крыма “Мыс Мартьян” занимает второе место по разнообразию морской макрофитобиоты и лидирует по уровню ее раритетности (Sadogurskiy et al., 2019). В сублиторали на твердых грунтах доминируют продуктивные флористически разнообразные и стабильные в пространстве и во времени цистозировые (*Cystoseira* sensu lato) сообщества. На рыхлых отложениях распространены взморниковые (род *Zostera* Linnaeus) сообщества, которые менее продуктивны, но их состав, структура и фенология имеют ряд специфических черт (Садогурский, 1998а, 1998б). У открытого берега рыхлые грунты достаточно подвижны и экстремальные штормы способны повреждать или даже уничтожать заросли морских трав, как это произошло у мыса Мартьян в 1992 г. (Садогурский, 1998а). В ходе дальнейших наблюдений существенных трансформаций здесь не выявлено, однако в 2020 г. зарегистрированы изменения в растительном покрове и обнаружена связанная с ними специфическая форма донного микрорельефа рыхлых грунтов. Цель настоящей публикации – охарактеризовать данное явление и выяснить возможные причины его возникновения.

Гидроботаническое обследование (отбор проб и визуальные наблюдения) прибрежно-морской акватории заповедника “Мыс Мартьян” (рис. 1) было выполнено по общепринятой методике (Калугина-Гутник, 1975) на глубине от 5.5 до 10.5 м с использованием легководолазного снаряжения в период с мая 2019 г. по октябрь 2021 г. В теплые сезоны года наблюдения осуществляли еженедельно, в холодные – ежеквартально. Профиль А–Б (рис. 1) был ориентирован с северо-запада

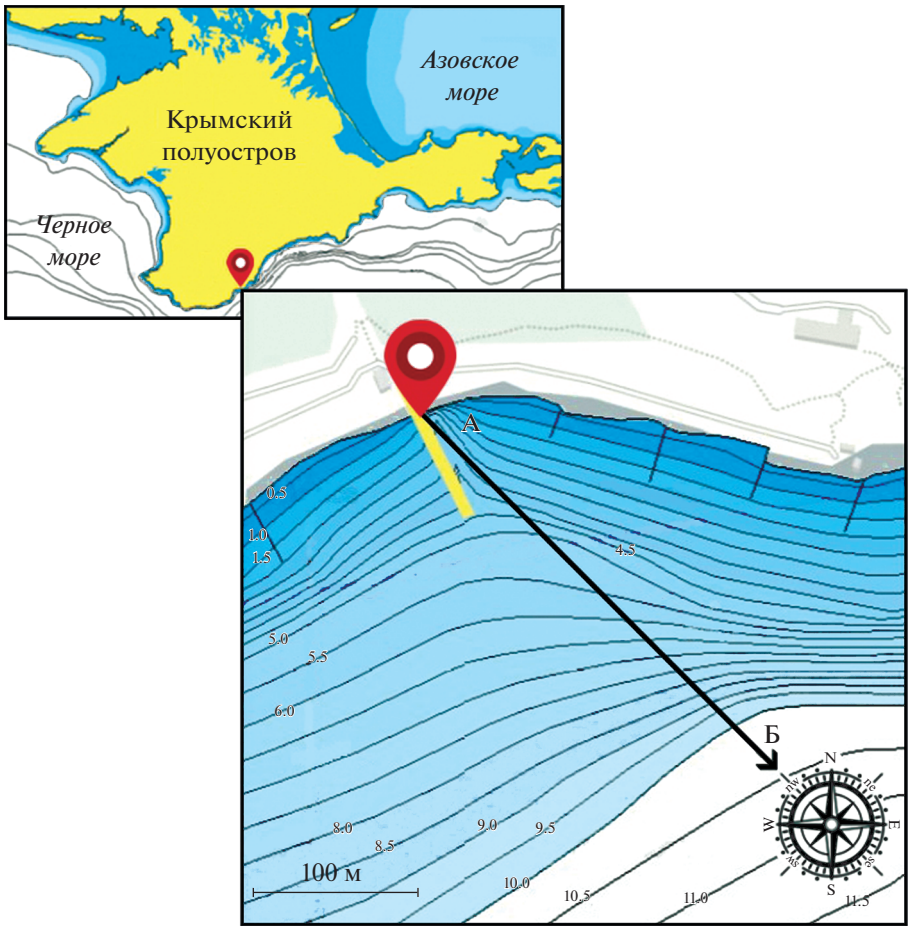

Рис. 1. Картосхема района исследований (по https://webapp.navionics.com/). А–Б – гидроботанический профиль, ориентированный с северо-запада на юго-восток.

на юго-восток вдоль азимута 135°; координаты точки его пересечения с урезом воды – 44°30′20.8″ N 34°14′18.3″ E (у основания пирса портопункта “Никитский ботанический сад”). Объект исследования – бентосный макроскопический растительный покров. Номенклатура макрофитов дана по AlgaeBase (Guiry, Guiry, 2013).

Многолетние наблюдения свидетельствуют о том, что сообщества морских трав в акватории заповедника развиваются на глубине от 5.5 до 10.5 м (местами до глубины 12.0 м), занимая площадь около 8.1 га (Артемов и др., 2019). Наиболее широко они распространены в пределах хозяйственной зоны, где граница твердых грунтов не распространяется глубже 5.0–6.0 м. Ранее здесь встречались два вида взморника – *Zostera marina* Linnaeus и *Z. noltei* Hornemann (Садогурский, 1998а), однако в последние 15–20 лет регистрируется одноярусное монодоминантное сообщество *Z. noltei*. Растительный покров фрагментирован; отдельные куртины размером 0.5–1.0 м в поперечнике удалены друг от друга на 1.0–7.0 м (местами до 10.0 м). Биомасса макрофитов в куртинах в зависимости от сезона года колеблется от 283 до 1050 г/м^2, а осенью достигает 391.67 ± 121.11 г/м^2 при проективном покрытии 30–35%. Всего было обследовано около 30 куртин, состояние которых, как и облик прилегающих участков дна, долгое время оставалось стабильным. Однако в середине октября 2020 г. в рыхлых отложениях были выявлены многочисленные микродепрессии, имеющие правильную округлую форму, с глубиной 10–15 (до 20) см от поверхности дна. Диаметр каждой микродепрессии был сопоставим с размером куртины, к которой она примыкала строго с северо-западной стороны (рис. 2). Степень заглубления, как и наличие или отсутствие четких краев (бровок), выраженных у некоторых микродепрессий, не зависели от глубины локализации. На фоне песчаного дна они хорошо выделялись благодаря скоплениям макроводорослей (рис. 3), среди которых доминировали *Callithamnion corymbosum* (Smith) Lyngbye (визуально до 40–50% объема скоплений) и *Ceramium virgatum* Roth (до 20–

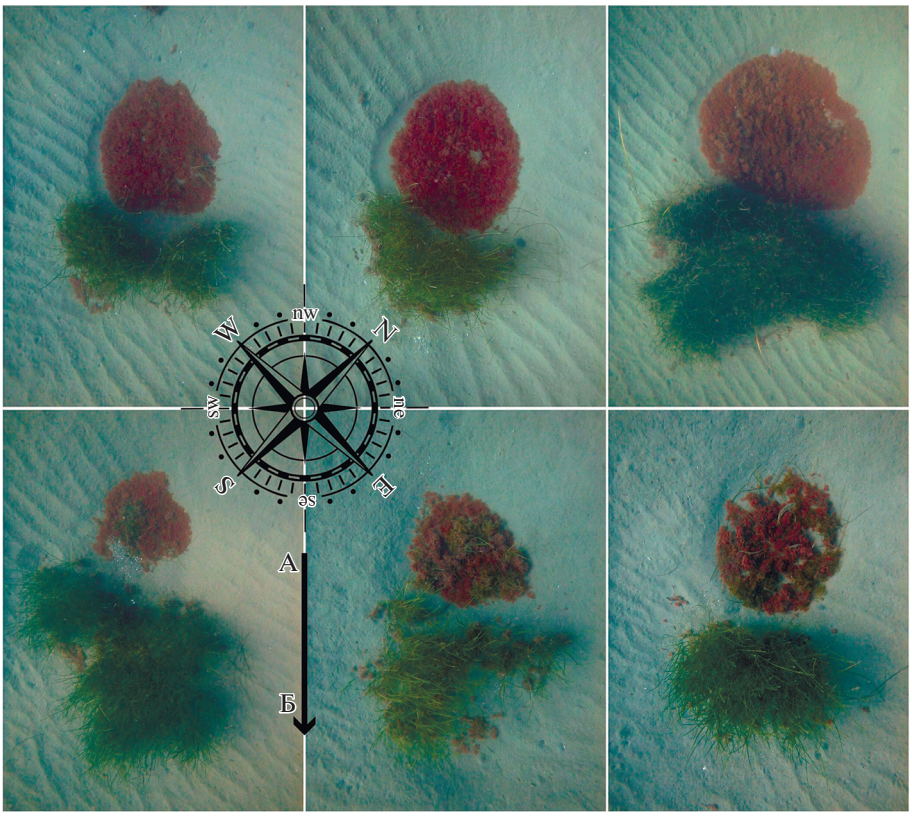

Рис. 2. Вид сверху на фрагменты зарослей *Zostera noltei* и примыкающие к ним микродепрессии в донных отложениях (район мыса Мартьян, 17.10.2020, глубина 6–8 м); направление луча А–Б совпадает с направлением профиля на рис. 1.

30%), по 5–10% приходилось на *Nereia filiformis* (J. Agardh) Zanardini и *Cladostephus hirsutus* (Linnaeus) Boudouresque et M. Perret-Boudouresque ex Heesch et al. Среди прочих наиболее были представлены *Chondria capillaris* (Hudson) M.J. Wynne, *Palisada thuyoides* (Kützing) Cassano, Sentíes, Gil-Rodríguez et M.T. Fujii и *Vertebrata subulifera* (C. Agardh) Küntze. Собственно фрагменты зарослей морских трав в этот период напоминали абрадирующие микроплато, описанные для Азовского моря (Садогурский, 1999), которые, достигая 1.0–6.0 м в поперечнике при высоте 15–20 см над окружающим дном, размывались только по периферии. В нашем случае куртины были размыты до их центров, при этом корневища полностью обнажались, а заросли фиксировались в грунте лишь дистальными концами корней, поэтому казалось, что они стоят на многочисленных “ножках” (рис. 3). На корневищах и отчасти на корнях обнаружено большое количество макроводорослей *C. corymbosum* и *C. virgatum*, а также менее многочисленные *Cladophora albida* (Nees) Kützing, *Ch. capillaris*, *Acrochaetium secundatum* (Lyngbye) Nägeli и *Vertebrata fucoides* (Hudson) Kuntze. В период наблюдений основная масса *C. corymbosum* и *C. virgatum* удерживалась среди обнажившихся подземных частей взморника лишь механически, однако некоторые экземпляры имели органы прикрепления (как и представители других таксонов, зарегистрированных в эпифитоне). Скопившиеся в микродепрессиях макрофиты были жизнеспособны, но не прикреплены, хотя под ними на поверхности дна сконцентрировалось множество раковин псаммофильных Bivalvia, к которым макроводоросли способны эффективно прикрепляться в условиях рыхлых грунтов. Очевидно, это были временные скопления, сформированные из целых и фрагментированных талломов макрофитов, которые развивались в данной акватории преимущественно на твердых грунтах (о чем свидетельствовал состав скоплений).

Интерес представляют причины возникновения и динамика микродепрессий, а также современное состояние растительного покрова. Что касается растительности, то вопреки опасениям к началу февраля 2021 г. корни взморника вновь затянуло песком, корневища были обнажены лишь частично и обильно покрыты эпифитами. Размеры и конфигурация куртин визуально не изменились. Микродепрессии исчезли, а ровное дно было покрыто лишь рифелями. Такую картину мы

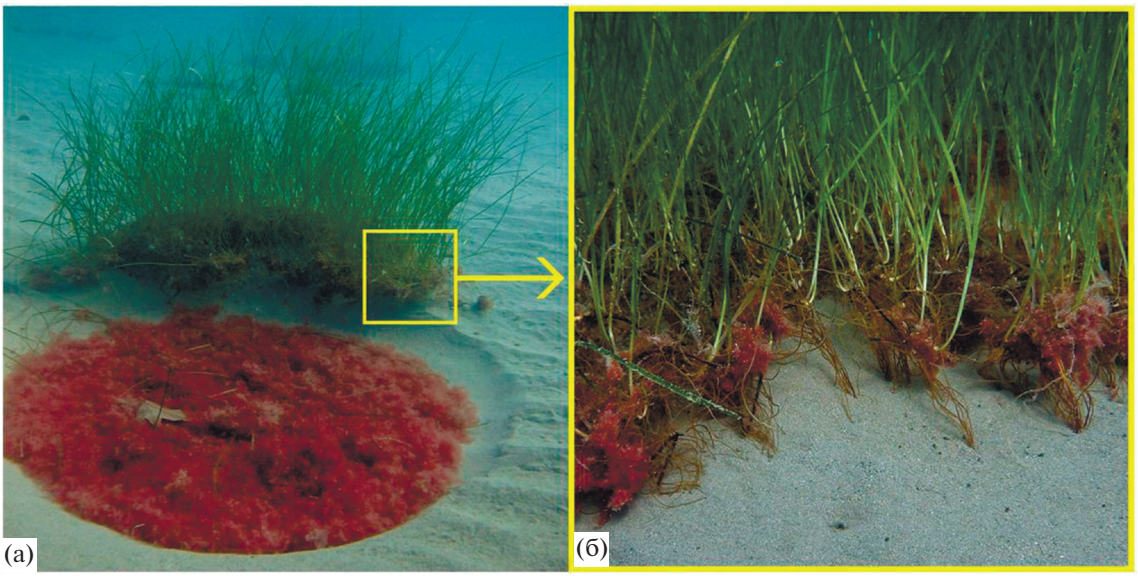

Рис. 3. Общий вид фрагмента зарослей *Zostera noltei* и прилегающей к нему микродепрессии в рыхлых донных отложениях (а) и развитие макроэпифитов на обнажившихся из грунта корневищах и корнях *Z. noltei* (б) в районе мыса Мартьян (17.10.2020, глубина 6.5 м).

наблюдали вплоть до момента написания рукописи в конце октября 2021 г.

В качестве причины описанного явления рассматривалось биогенное (зоогенное) и абиогенное (гидродинамическое) воздействие. В пользу второго свидетельствует отчетливая ориентация обследованных пар “микродепрессия – куртина” в направлении с северо-запада на юго-восток с азимутом 125°–135° (гидроботанический профиль А–В для наглядности направлен соответственно; см. рис. 1 и 2). Сомнительно, что роющие животные способны подобным образом синхронизировать свою активность в пространстве, поэтому наиболее вероятным пространственно ориентированным фактором представляется движение воды, ее волнение или течение. Действительно, в обследованном районе по повторяемости и силе доминирует штормовое волнение с восточного и юго-восточного направлений (Горячкин, Репетин, 2009). Однако описываемый феномен был локализован относительно далеко от берега и глубоко, к тому же нашим наблюдениям предшествовал длительный период без существенных штормов (Архив погоды..., 2021). Кроме того, не наблюдалось явной зависимости размера и выраженности микродепрессий от глубины в ее обследованном интервале. Под влиянием волнения картина выглядела бы иначе. Так, известно, что шторм 14–15 ноября 1992 г. уничтожил заросли на глубине 6 м, лишь повредив их на глубине 8 м и глубже (Садогурский, 1998а). То, что микродепрессии были локализованы лишь с одной стороны куртин, также свидетельствует, скорее, не о возвратно-поступательном движении, а об устойчивом однонаправленном перемещении воды, т.е. о течении. Детальная информация о режиме течений в точке отбора проб отсутствует, однако известно, что в районе исследований вдольбереговое течение обычно совпадает с основной струей Черноморского течения и направлено примерно на запад со скоростью, редко превышающей 10 см/с (Белокопытов и др., 2003). На динамику прибрежных вод существенно влияют ветры. При сопутствующем ветре примерно в 5% случаев скорость вдольберегового течения превышает 30 см/с, иногда достигает 50 см/с и, крайне редко, 100 см/с. Известно, что скорость сейшевых течений у ЮБК может достигать 70 см/с, а при параллельных берегу восточных (или близких к ним) ветрах из-за ускорения Кориолиса у соответствующих вдольбереговых течений возникает поперечная составляющая, направленная к берегу (Горячкин и др., 2002; Горячкин, Иванов, 2006). Наши наблюдения, не претендуя на полноту, также свидетельствуют о том, что при сопутствующих устойчивых восточных (или близких к ним) ветрах вдольбереговое течение, огибая мыс Мартьян, значительно ускоряется и отклоняется к берегу. Изредка оно становится настолько интенсивным, что перемещает по дну крупные фрагменты природного и антропогенного происхождения, а заросли макрофитов полегают, как на речном дне. Возможно, подобный поток, сформированный совокупным воздействием те-

чения и ветра, мог на своем пути размыть донные препятствия (куртины), а преодолев их, из-за повышения турбулентности сформировал с тыльных сторон куртин микродепрессии в рыхлых отложениях. В литературе упоминаний о такой форме микрорельефа не найдено, но последствия взаимовлияния зарослей морских трав, микрорельефа и гидродинамики в донных ландшафтах, в том числе в Средиземноморском регионе, весьма разнообразны (Widdows et al., 2008; Gobert et al., 2016; Abadie et al., 2018).

Таким образом, зарегистрированное явление, вероятно, обусловлено повышением локальной гидродинамики и имеет обратимый характер, однако заслуживает более пристального изучения и обсуждения, так как может существенно (возможно, негативно) влиять на распределение, состав и структуру растительного покрова не только в акватории заповедника, но и в регионе в целом. Дальнейшие наблюдения позволят уточнить информацию о характере, повторяемости и масштабах явления. Их актуальность связана в том числе с планами по трансформации береговой зоны обследованного участка, которая предполагает возведение новых крупных волнорезов, искусственных мысов, рифов и т.д., что повлияет на прибрежную гидродинамику, бентосный растительный покров и общую экологическую ситуацию.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Артемов Ю.Г., Садогурский С.Е., Плугатарь Ю.В. и др. Гидроакустическое исследование макроскопической донной растительности в заповедной морской акватории у мыса Мартьян (Крым, Черное море) // Мор. биол. журн. 2019. Т. 4. № 3. С. 15–25. https://doi.org/10.21072/mbj.2019.04.3.02

Архив погоды в Никитском саду. 2021. http://www.pogodaiklimat.ru/weather.php?id=33995 Accessed 28.10.2021.

Белокопытов В.Н., Саркисов А.А., Щуров С.В. Течения прибрежной зоны на участке Крымского полуострова от мыса Сарыч до поселка Кацивели // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование ресурсов шельфа. 2003. № 8. С. 64–68.

Горячкин Ю.Н., Иванов В.А. Уровень Черного моря: прошлое, настоящее и будущее. Севастополь. 2006. 210 с.

Горячкин Ю.Н., Иванов В.А., Репетин Л.Н., Хмара Т.В. Сейши в Севастопольской бухте // Наук. праці УкрНДГМІ. 2002. Вип. 250. С. 342–353.

Горячкин Ю.Н., Репетин Л.Н. Штормовой ветро-волновой режим у черноморского побережья Крыма // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование ресурсов шельфа. 2009. № 19. С. 56–69.

Калугина-Гутник А.А. Фитобентос Черного моря. Киев: Наукова думка. 1975. 248 с.

Крайнюк К.С., Маслов И.И. ПЗ Мис Мартьян // Фіторізноманіття заповідників і національних природних парків України. Ч. 1. Біосферні заповідники. Природні заповідники / Під ред. В.А. Онищенка і Т.Л. Андрієнко. Київ: Фітосоціоцентр. 2012. С. 277–290.

Садогурский С.Е. Эколого-биологические особенности видов рода *Zostera* L. у Южного берега Крыма // Бюл. Никитск. ботан. сада. 1998а. Вып. 80. С. 27–36.

Садогурский С.Е. Альгофлора фитоценозов *Zostera* L. у Южного берега Крыма // Бюл. ГБНС. 1998б. Вып. 80. С. 36–48.

Садогурский С.Е. Растительность мягких грунтов Арабатского залива (Азовское море) // Альгология. 1999. Т. 9. № 3. С. 231–238.

Abadie A., Pace M., Gobert S., Borg J.A. Seascape ecology in *Posidonia oceanica* seagrass meadows: Linking structure and ecological processes for management // Ecol. Indic. 2018. V. 87. P. 1–13. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2017.12.029

Gobert S., Lepoint G., Pelaprat C. et al. Temporal evolution of sand corridors in a Posidonia oceanica seascape: a 15-years study // Mediterr. Mar. Sci. 2016. V. 17. № 3. P. 777–784. https://doi.org/10.12681/mms.1816

Guiry M.D., Guiry G.M. AlgaeBase. World-wide electron. publ. Nat. Univ. Ireland, Galway. 2013. http://www.algaebase.org Accessed 28.10.2021.

Sadogurskiy S.Ye., Belich T.V., Sadogurskaya S.A. Macrophytes of the marine water areas of the nature reserves in the Crimean Peninsula (Black Sea and Azov Sea) // Int. J. Algae. 2019. V. 21. № 3. P. 253–270. https://doi.org/10.1615/InterJAlgae.v21.i3.50

Widdows J., Pope N.D., Brinsley M.D. et al. Effects of seagrass beds (*Zostera noltii* and *Z. marina*) on near-bed hydrodynamics and sediment resuspension // Mar. Ecol.: Progr. Ser. 2008. V. 358. P. 125–136. https://doi.org/10.3354/meps07338

Eelgrass Beds (Gen. *Zostera* Linnaeus, 1753) and the Related Specific Form of the Bottom Microrelief at the Southern Coast of Crimea (the Black Sea)

S. Ye. Sadogurskiy[a], S. A. Sadogurskaya[a], and T. V. Belich[a]

[a] *Nikitsky Botanical Gardens – National Scientific Center, Russian Academy of Sciences, Yalta 298648, Russia*

Based on the results of monitoring, this paper presents data on the state of eelgrass beds (*Zostera* Linnaeus), distributed at depths of 5.5–10.5 m (up to 12 m) within the marine coastal waters of the "Cape Martyan" Nature Reserve (Southern Coast of Crimea, the Black Sea). In the autumn of 2020, fragments of eelgrass thickets (beds) showed signs of soil erosion, leading to significant exposure of underground roots and rhizomes of sea grasses and the development of abundant epiphyton on them. For the first time, a specific form of the bottom microrelief was registered, and the localization of this bottom relief was associated with distribution of sea vegetation. There were found numerous micro depressions in loose deposits at a depth of 10–15 cm, they were characterized by a regular rounded shape. The diameters of the micro depressions were commensurate with the size of the beds, to which they were adjoined strictly on the north-western side. Micro depressions were filled with temporary accumulations of unattached macroalgae. Further observations revealed the reversibility of this phenomenon. Causes of the microrelief (probably related to increased local hydrodynamics) and probability of the potential impact of soft soils on the bottom vegetation are discussed.

Keywords: the Black Sea, Crimea, Cape Martyan, phytobenthos, *Zostera* Linnaeus, macroalgae, structure, distribution, microrelief