

# СОДЕРЖАНИЕ

---

---

Том 47, номер 4, 2021

---

---

## Обзор

Оседание личинок и репродуктивная фенология симпатрических видов раков-отшельников умеренных широт

*Е. С. Корниенко*

219

---

## Оригинальные статьи

Смертность икринок минтая *Gadus chalcogrammus* Pallas, 1814 в течение эмбриогенеза в водах западного побережья Камчатки

*А. В. Буслов, А. В. Смирнов*

228

Долговременный биомониторинг загрязнения Уссурийского залива Японского моря тяжелыми металлами

*С. И. Коженкова, Н. К. Христофорова, Е. Н. Чернова, А. Д. Кобзарь*

235

Новые данные о флоре диатомовых водорослей (Bacillariophyta) в заливе Кара-Богаз-Гол Каспийского моря

*С. А. Булатов*

244

Видовой состав и экология цианобактерий литорали Кольского залива Баренцева моря

*Е. С. Мирошниченко*

253

Активность каталазы и супероксиддисмутазы в эритроцитах и уровень метгемоглобина в крови морского ерша *Scorpaena porcus* Linnaeus, 1758 в условиях острой гипоксии

*А. А. Солдатов, Т. И. Андреевко, Т. А. Кухарева, А. Ю. Андреева, Е. С. Кладченко*

262

Влияние полифенольных примесей, содержащихся в образцах фукоидана из бурой водоросли *Fucus distichus* Subsp. *evanescens* (С. Agardh) Н.Т. Powell, 1957, на эмбриогенез морского ежа *Strongylocentrotus intermedius* (А. Agassiz, 1864) и эмбриотоксическое действие кукумариозида

*М. И. Киселева, Т. И. Имбс, С. А. Авилов, И. Ю. Бакунина*

270

---

## Краткие сообщения

Обнаружение нового лежбища кольчатой нерпы *Pusa hispida* (Schreber, 1775) (Phocidae) на острове Сахалин

*Е. Б. Лебедев, В. Я. Кавун, А. М. Трухин*

281

Поиск полиморфных микросателлитных локусов для морского окуня *Sebastes taczanowskii* Steindachner, 1880 (Sebastidae)

*Н. М. Батищева, Вл. А. Брыков*

285

---

---

# Contents

---

---

Volume 47, No 4, 2021

---

---

## Review

- Larval Settlement and Reproductive Phenology of Sympatric Hermit Crabs in Temperate Waters  
*E. S. Kornienko* 219
- 

## Original papers

- Egg Mortality in Walleye Pollock *Gadus chalcogrammus* Pallas, 1814 during Embryogenesis in Waters off the Western Kamchatka Coast  
*A. V. Buslov, A. V. Smirnov* 228
- Long-Term Biomonitoring of Heavy Metal Pollution of Ussuri Bay, Sea of Japan  
*S. I. Kozhenkova, N. K. Khristorova, E. N. Chernova, A. D. Kobzar* 235
- Diatom Flora (Bacillariophyta) of Kara-Bogaz-Gol Bay, the Caspian Sea: New Data  
*S. A. Bulatov* 244
- Cyanobacteria of the Intertidal Zone of the Kola Bay of the Barents Sea: Species Composition and Ecology  
*E. S. Miroshnichenko* 253
- Catalase and Superoxide Dismutase Activity in Erythrocytes and Methemoglobin Level in Blood of Black Scorpionfish *Scorpaena porcus* Linnaeus, 1758 Exposed to Acute Hypoxia  
*A. A. Soldatov, T. I. Andreenko, T. A. Kukhareva, A. Yu. Andreeva, E. S. Kladchenko* 262
- Effects of Polyphenolic Impurities in Fucoidan Samples from the Brown Alga *Fucus distichus* subsp. *evanescens* (C. Agardh) H.T. Powell, 1957 on the Embryogenesis in the Sea Urchin *Strongylocentrotus intermedius* (A. Agassiz, 1864) and on the Embryotoxic Action of Cucumarioside  
*M. I. Kiseleva, T. I. Imbs, S. A. Avilov, I. Yu. Bakunina* 270
- 

## Brief notes

- The First Record of a New Haul-Out Site of Ringed Seals, *Pusa hispida* (Schreber, 1775) (Phocidae), on Sakhalin Island  
*E. B. Lebedev, V. Ya. Kavun, A. M. Trukhin* 281
- Search of Polymorphic Microsatellite Loci for *Sebastes taczanowskii* Steindachner, 1880 (Sebastidae)  
*N. M. Batishcheva, V. A. Brykov* 285
- 
-

УДК 595.384

## ОСЕДАНИЕ ЛИЧИНОК И РЕПРОДУКТИВНАЯ ФЕНОЛОГИЯ СИМПАТРИЧЕСКИХ ВИДОВ РАКОВ-ОТШЕЛЬНИКОВ УМЕРЕННЫХ ШИРОТ

© 2021 г. Е. С. Корниенко\*

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

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

Поступила в редакцию 27.01.2020 г.

После доработки 25.03.2020 г.

Принята к публикации 31.08.2020 г.

Обсуждаются проблема сосуществования близкородственных видов Paguroidea (Decapoda: Anomura) и основные механизмы структурирования сообществ этих видов в симпатрии: дифференциальное использование местообитаний, конкуренция за ресурсы и физиологическая устойчивость к воздействию абиотических факторов. Считается, что конкуренция за раковины брюхоногих моллюсков у раков-отшельников наиболее высокая на этапе оседания личинок. Рассмотрены особенности оседания личинок раков-отшельников, фенология размножения и различия в репродуктивных характеристиках, которые позволяют симпатрическим видам умеренных широт снизить конкуренцию за раковины на ранних этапах жизни.

*Ключевые слова:* Paguroidea, сосуществование, конкуренция, инкубационный период, эмбриональная диапауза, оседание личинок

**DOI:** 10.31857/S0134347521040082

Сосуществование близкородственных видов в симпатрии — один из вопросов, находящихся в центре экологических исследований. Особый интерес для понимания эволюционных и экологических последствий взаимодействия видов представляет выяснение того, какие абиотические (температура, субстрат, соленость и т.д.) и биотические (наличие ресурсов, конкуренция и хищничество) факторы определяют границы между близкородственными видами (Chunco et al., 2012). Сообщества литоральных раков-отшельников, в которых несколько близких видов часто живут в тесной симпатрии (Lima et al., 2018), представляют уникальную систему для проверки гипотез об использовании ресурсов и экологических последствиях межвидовой конкуренции (Kellogg, 1977; Hazlett, 1981; Gherardi, 1990; Gherardi, Nardone, 1997; Laidre, 2012, 2013; Teoh et al., 2014; Alcaraz, Kguesi, 2019; Rodrigues et al., 2020).

В зависимости от ряда взаимодействующих факторов характер распределения раков-отшельников в прибрежной зоне варьирует как в пространстве, так и во времени (Reese, 1969; Волвенко, 1995). Макрораспределение определяется географическим распределением популяций и их видовым составом. Ритмы сезонной и суточной активности, миграции, образование скоплений и

рассредоточение накладываются друг на друга, влияя на микрораспределение в рамках общей картины (Fotheringham, 1975; Asakura, 1987; Lancaster, Wigham, 1990; Turra, Denadai, 2003; Peres et al., 2018). Решающее значение имеет и физиологическая устойчивость к экстремальным температурам, солености и периодическому осушению, связанному с приливно-отливными явлениями, особенно в тех случаях, когда невозможно избежать экстремальных условий или уменьшить их влияние поведенческой реакцией. В свою очередь, дифференциальное использование среды обитания может быть основным фактором, ответственным за снижение межвидовой конкуренции за ресурсы (Gherardi, 1990).

Мелкомасштабные исследования распределения сосуществующих раков-отшельников выявили похожие модели вертикального районирования с выделением видов в отдельные полосы внутри литоральной зоны (Reese, 1969; Kellogg, 1977; Imazu, Asakura, 1994; Goshima et al., 1996; Turra et al., 2000; Teoh et al., 2014; Корниенко, Селин, 2019). Симпатрические виды раков-отшельников на литорали подвергаются воздействию одних и тех же абиотических факторов, но степень толерантности к воздействию данных факторов у животных различается, в результате они

по-разному используют микроместообитания, формируя скопления особей одного вида. У ряда видов раков-отшельников оценены устойчивость к периодическому осушению (Reese, 1969; Turra, Denadai, 2002), а также предпочтения по отношению к субстрату (Turra et al., 2000; Turra, Denadai, 2002), солёности (Yoshino et al., 2014), температуре (Valère-Rivet et al., 2017) и другим факторам среды.

В симпатрии границы обитания каждого вида определяются не только разной степенью толерантности по отношению к факторам окружающей среды, но и межвидовой конкуренцией за ресурсы. Известно, что доминирующие пищевые конкуренты выбирают наиболее богатые кормовые угодья, вытесняя низших конкурентов. Закономерности зонирования, наблюдаемые среди симпатрических видов раков-отшельников, могут быть результатом пищевой конкуренции. Большинство раков-отшельников всеядны (Hazlett, 1981), и в отсутствие симпатрических конкурентов спектр их питания невероятно разнообразен (Laidre, 2013), однако внутривидовая и межвидовая конкуренция могут ограничивать доступ особей какого-либо вида к определенной пище (Ramsay et al., 1997; Kaiser et al., 1998). Показано, что при межвидовой конкуренции пища становится потенциально ограничивающим ресурсом и пищевая конкуренция между симпатрическими видами играет важную роль в структурировании сообществ раков-отшельников, влияя на распределение и численность этих декапод в литоральной зоне (Tran et al., 2014; Селин, 2017).

Обитание в раковинах гастропод — основная адаптация раков-отшельников, позволяющая этой группе ракообразных доминировать в литорали (Reese, 1969). Раковины защищают их от хищников, механических повреждений, обезвоживания, высоких температур и т.д. (Reese, 1969; Taylor, 1981; Turra, Denadai, 2001, и др.). Размер, тип и качество раковины брюхоногих влияют на морфологию рака-отшельника (Turra, Leite, 2003), его рост (Markham, 1968), плодовитость (Childress, 1972; Fotheringham, 1976; Elwood et al., 1995) и выживаемость в условиях хищничества (Reese, 1969; Angel, 2000; Arce, Córdoba-Aguilar, 2018). Выбор раковины определяется ее размером (Vance, 1972), внутренним объемом (Conover, 1978), массой (Mantelatto, Dominciano, 2002) и внешней архитектурой (Vance, 1972). Наличие подходящих раковин дает ракам-отшельникам адаптивные преимущества (Mima et al., 2003; Arce, Alcaraz, 2013). Количество доступных раковин брюхоногих моллюсков, как правило, ограничено, поэтому механизмы, помогающие уменьшить конкуренцию за обладание раковиной, будут селективно выгодны.

Внутривидовую конкуренцию за раковины между самцами и самками позволяет снизить различие в размерах. Самцы раков-отшельников

крупнее самок, поэтому занимают более крупные и тяжелые раковины. Считается, что самцы достигают больших размеров, так как больше энергии вкладывают в рост. С одной стороны, расход энергии на производство и инкубацию яиц приводит к снижению соматического роста самок, следовательно, они занимают более легкие раковины меньшего размера, что требует меньших энергетических затрат на их транспортировку (Bertness, 1981; Lancaster, 1990). С другой стороны, различие в размерах может быть результатом полового отбора, когда в результате внутривидового соревнования за репродуктивных партнеров, как правило, побеждают более крупные самцы, тогда как размер самок не связан с успехом спаривания (Asakura, 1995). Если существует возможность выбора, то раковины, выбираемые самцами, обычно больше размера их тела, а самки выбирают раковины, соответствующие размеру тела (Yoshino et al., 1999). Репродуктивный успех самцов определяется в основном числом самок, с которыми они спариваются; успех размножения самок определяется количеством произведенных яиц, следовательно, для самок долгосрочная выживаемость важнее, чем для самцов. Поэтому самки предпочитают раковины, обеспечивающие защиту от хищников или от стрессового воздействия окружающей среды, а самцы, для которых большой размер является преимуществом в борьбе за возможность спаривания, чаще предпочитают раковины, обеспечивающие им быстрый рост, даже если это может отрицательно сказаться на выживании (Yoshino, Goshima, 2001).

Выбор раковин зависит от региона и разнообразия брюхоногих моллюсков. Раки-отшельники выбирают местообитание, где затем среди доступных раковин брюхоногих моллюсков занимают раковины, в наибольшей степени отвечающие их потребностям (Teoh et al., 2014; Stanski et al., 2016). Показано также, что использование раковин в природе зависит и от вида рака-отшельника (Dominciano et al., 2009). У разных видов раков-отшельников в выборе подходящих раковин существуют предпочтения, которые определяются, по меньшей мере, тремя факторами: формой (или видом), размером и доступностью раковин (Wada et al., 1997; Yoshino et al., 1999; Turra, Leite, 2004; Teoh, Chong, 2014, и др.). На поведение раков-отшельников при выборе раковины влияют скорость их роста (Wada et al., 1997), химические сигналы (Benoit et al., 1997), присутствие хищников (Rotjan et al., 2004), история использования раковин (Elwood et al., 1979; Turra, Leite, 2003) и экологический стресс (Bulinski, 2007). Выбор раковины — это сложная система, непосредственно влияющая на историю жизни раков-отшельников. Эффективность использования раковины зависит от сочетания специфических для данного объекта особенностей, следо-

вательно, на каждом участке выбор будет определяться балансом нескольких факторов, что может влиять на конкуренцию за ресурсы раковин и приводить к изменению схемы их использования раками-отшельниками (Yoshino et al., 1999; Hasegawa et al., 2011).

В жизненном цикле раков-отшельников потребность в раковине появляется на стадии мегалопы при переходе от планктонного к бентосному существованию (Harvey, Colasurdo, 1993; Oba, Goshima, 2004), поэтому конкуренция за этот ресурс возникает уже во время оседания (Asakura, 1991). Несмотря на то, что оседание личинок раков-отшельников происходит в прибрежной зоне, где виды брюхоногих разнообразны и многочисленны (Lancaster, 1990), предполагается, что конкуренция между мегалопами, которые впервые приобретают раковину, может быть более напряженной, чем между взрослыми раками-отшельниками, уже имеющими раковину (Elwood, Neil, 1992, цит. по: Wada et al., 2005). Снижение межвидовой конкуренции за раковины и более успешное оседание могут быть обеспечены в случае дифференциации сезона размножения (Reese, 1968). Однако у симпатрических видов схожие графики размножения, а в умеренных широтах период нахождения личинок в планктоне и, соответственно, время их оседания ограничены климатическими условиями.

По литературным данным рассмотрим особенности оседания личинок раков-отшельников и основанные на репродуктивной фенологии возможные механизмы, которые позволяют снизить межвидовую конкуренцию за раковины на ранних этапах жизни симпатрических раков-отшельников в умеренных широтах.

#### *Оседание личинок раков-отшельников и выбор первой раковины*

Пелагическая фаза жизни раков-отшельников семейства Paguridae включает 4 (редко 3) стадии зоза; в семействах Coenobitidae и Diogenidae от 2 до 7 стадий зоза, а в семействе Parapaguridae – от 4 до 6 (Tudge et al., 2012). Переход от стадии к стадии сопровождается линькой; продолжительность стадий определяется температурой воды. В лабораторных условиях продолжительность личиночного развития пагуридов от вылупления до стадии мегалопы варьирует от двух недель (при температуре 25°C) до двух месяцев (при 6°C) (Oba, Goshima, 2004). Следовательно, в природных условиях в зависимости от времени выхода личинок в планктон продолжительность личиночного развития одного и того же вида будет разной. Оседание определяется как поведенческий процесс, в результате которого личинки перемещаются из толщи воды к потенциальному месту поселения. Оседание личинок и метаморфоз

представляют собой критические события перехода от планктонного образа жизни к бентосному, которые сопровождаются высокой смертностью (Anger, 2001, 2006; Zenone et al., 2016; Gebauer et al., 2020). Эти два процесса чрезвычайно важны в контексте экологии, поскольку влияют на вероятность успешного пополнения, поддержания и стабильности донных морских популяций и сообществ (Rodríguez et al., 1993). На начальных этапах бентосной фазы жизни особей особенно велики риски хищничества и поселения в неподходящих местах обитания. Оседание предполагает выбор адекватного субстрата, обеспечивающего укрытие и пищу на ранних этапах жизни (Vinuesa et al., 2011; Zenone et al., 2016).

У раков-отшельников мегалопы – это первая стадия, способная распознавать и занимать пустые раковины гастропод. Личинка активно плавает в поисках подходящей раковины и при ее выборе использует тактильный контакт, касаясь раковины передней парой ходильных ног, которые у плывущей мегалопы обычно направлены прямо вперед (Harvey, 1996). Если найденная раковина подходит, личинка ее занимает. Наличие экологических и конспецифических сигналов значительно увеличивает выживаемость личинок и ускоряет время развития мегалопы через метаморфоз, а отсутствие данных сигналов приводит к задержке метаморфоза. Однако мегалопы не могут откладывать метаморфоз на неопределенное время, так как существует временной порог, за пределами которого она метаморфозирует в отсутствие стимулов (Forward et al., 2001; Gebauer et al., 2020).

Известно, что мегалопы пагуридов обычно не питаются, это позволяет им до наступления метаморфоза сосредоточиться на поиске подходящей пустой раковины (Anger, 1989). Активное плавание очень редко наблюдается более двух суток, так как за это время большинство мегалоп обзаводятся раковинами (Roberts, 1971). У питающихся мегалоп диогенид в отсутствие раковин метаморфоз может задерживаться. Раковина необходима только после метаморфоза, но именно мегалопы начинают искать пустую раковину соответствующего размера, которая будет занята незадолго до или, самое позднее, сразу после метаморфоза (Anger, 1989).

На примере *Pagurus hirsutiusculus* показано, что оседающие мегалопы предпочитают определенные раковины. Такие предпочтения могут быть причиной ограничения ресурса мелких раковин для молоди, что может иметь каскадное влияние на распределение, численность или характер использования раковин у взрослых раков-отшельников (Worcester, Gaines, 1997). Считается, что на оседание раков-отшельников влияют присутствие взрослых особей, а также распределение и

обилие мелких раковин. Положительная корреляция между плотностью осевших раков-отшельников и наличием мелких вакантных раковин отмечена для *Diogenes nitidimanus* (см.: Asakura, 1991). Однако известно, что личинки многих донных видов оседают рядом со взрослыми особями своего вида, обеспечивая самопополнение популяции (Sponaugle et al., 2002), и место, где существует поселение взрослых, является подходящей средой обитания для оседающей молодежи. Раков-отшельник *Discorsopagurus schmitti* из северной части Тихого океана обитает в биогермах полихеты *Sabellaria cementarium*. Это довольно редкая среда обитания в районе распространения данного рака-отшельника. Показано, что, несмотря на длительный период планктонного развития (до 70 сут), личинки *D. schmitti* удерживаются вблизи родительской популяции, однако вопрос о механизмах, позволяющих мегалопе осесть в подходящих для взрослой жизни местах, остается открытым (Gherardi, 1995). Полевой эксперимент, проведенный в зал. Хакодате (Япония), показал, что в относительно крупном масштабе в пределах литоральной отмели численность недавно осевших ювенильных особей была высокой там, где обитали взрослые животные, но в микромасштабах их распределение хорошо объяснялось доступностью ресурсов раковин (Oba, Goshima, 2004). На пространственные модели расселения личинок могут влиять такие физические факторы, как течения, приливы и сила ветра, которые оказываются сильнее плавательной способности зоэа. Однако у симпатрических видов раков-отшельников пространственная структура оседания мегалоп существенно различается даже в случае, когда время нахождения зоэа этих видов в планктоне перекрывается, т.е. когда на расселение и оседание личинок влияют схожие физические факторы. На основе этого высказано предположение, что на модель расселения могут влиять и некоторые поведенческие характеристики личинок: поведение ориентирования, поведение при выборе грунта, задержка метаморфоза и предпочтение в выборе раковин (Oba, Goshima, 2004). Очевидно, что существуют межвидовые различия в морфологии, развитии и поведении личинок, играющие определенную роль в их расселении, однако взаимосвязь между экологией личинок и репродуктивной фенологией раков-отшельников еще предстоит изучить.

#### Фенология размножения симпатрических видов

Известно, что близкородственные виды, обитающие в симпатрии, обычно различаются по фенотипическим признакам, которые связаны с использованием ресурсов. В литературе обсуждаются две гипотезы возникновения этих различий. Во-первых, виды могли адаптироваться к разным

условиям окружающей среды в аллопатрии и приобретенные ими различия впоследствии способствовали сосуществованию в симпатрии. Во-вторых, в симпатрии различия между родственными видами могут появиться благодаря отбору для снижения конкуренции за ресурсы (“смешение признака”) (Pfennig, Murphy, 2003; Chunco et al., 2012; Pfennig, Pfennig, 2012).

Результаты исследований межвидовых различий в репродуктивной фенологии симпатрических раков-отшельников из разных районов Мирового океана, в том числе и из умеренных широт, приведены во многих публикациях (Reese, 1968; Imazu, Asakura, 1994; Carlon, Ebersole, 1995; Turra, Leite, 2000; Macpherson, Raventos, 2004; Oba, Goshima, 2004; Wada et al., 2005; Lima et al., 2014, и др.). Сравнение описанных репродуктивных моделей популяций показало, что размножение и, следовательно, жизненные стратегии раков-отшельников в первую очередь зависят от эволюционной истории вида и локальных процессов, действующих на каждую совокупность видов или популяцию, а не от таксономической или географической близости (Turra, Leite, 2000).

Сравнивая репродуктивные характеристики нескольких видов раков-отшельников у побережья о-ва Хоккайдо, Вада с соавторами (Wada et al., 2000) акцентировали внимание на количестве кладок, производимых в течение сезона размножения. Они предположили, что самки *Pagurus filholi* и *P. lanuginosus* с множественными кладками способны увеличить ежегодное число потомства, выпуская личинок в разное время, тем самым корректируя непредсказуемую динамику доступности пищи и раковин, необходимых для оседания. Согласно этой гипотезе, можно было ожидать, что у всех симпатрических видов с несколькими кладками репродуктивный сезон ограничен филогенетическими требованиями и климатическими рамками, такими как высокая или низкая температура, и межвидовая конкуренция не приведет к появлению различий в их репродуктивных сезонах (Wada et al., 2005). В то же время сезон размножения самок с одной кладкой (*Pagurus nigrofascia* и *P. middendorffii*) позволит максимизировать выживание личинок и успех оседания при условии, что они выйдут в планктон в наиболее благоприятный для питания, роста и последующего оседания сезон. У распространенных в прибрежье центральной Японии видов *P. filholi* и *P. lanuginosus* пики репродуктивной активности отмечены зимой в отличие от обитающего здесь же вида *Clibanarius virescens*, яйценозные самки которого встречались летом. Было высказано предположение, что различия в репродуктивной фенологии данных видов связаны с адаптацией, возникшей в аллопатрии, поскольку считается, что видообразование раков-отшельников семейства Paguridae более выражено в северных водах, тогда

как род *Clibanarius* (семейство Diogenidae) широко представлен в тропических водах (Imazu, Asakura, 1994). Это подтверждают и данные по репродуктивной фенологии симпатрических видов раков-отшельников у побережья о-ва Сикоку (Япония), согласно которым репродуктивные сезоны пагурид (*P. filholi*, *P. maculosus*, *P. minutus*, *P. nigrivittatus*), как правило, приурочены к зимнему периоду, а видов, принадлежащих к семейству Diogenidae, — к летнему (Wada et al., 2005). Очевидно, существуют верхний и нижний пределы температуры для определения репродуктивного сезона раков-отшельников этих семейств.

При проведении исследований в зал. Восток (Японское море) были обнаружены 6 видов раков-отшельников из семейства Paguridae и один вид из семейства Diogenidae (Селин и др., 2016). Репродуктивные характеристики подробно описаны для трех самых массовых видов: *P. minutus*, *P. brachiomastus* и *P. proximus* (Korn et al., 2018; Корниенко, Селин, 2019; Kornienko et al., 2019); для всех семи видов установлено время нахождения личинок в планктоне (Корниенко, Корн, 2016). Личинки *P. pectinatus* и *P. middendorffii* появлялись в планктоне ранней весной (в апреле и мае соответственно) и встречались на протяжении двух месяцев (Корн и др., 2010; Корниенко, Корн, 2016), из чего следует, что самки этих раков-отшельников в зал. Восток откладывают одну кладку, которую вынашивают в течение зимы. В отличие от указанных выше пагурид, репродуктивный период у *Areopaguristes hirsutimanus* (семейство Diogenidae), также производящего лишь одну кладку за сезон размножения, приурочен к самому теплomu времени года, яйценосные самки отмечены в июне–августе (собственные неопубликованные данные). У этого вида сокращенное развитие, состоящее из трех стадий зоза и стадии мегалопы (Kornienko, Korn, 2011); личинки присутствуют в планктоне с начала июля до середины сентября (Корниенко, Корн, 2016). Данные сведения также подтверждают гипотезу о том, что различия в репродуктивной фенологии пагурид и диогенид связаны с адаптацией, возникшей в аллопатрии.

Массовые прибрежные виды пагурид *P. minutus*, *P. brachiomastus* и *P. proximus* в зал. Восток за сезон размножения вынашивают несколько кладок. Сравнение репродуктивных характеристик показало, что продолжительность репродуктивного периода у них разная: у *P. proximus* — 9 мес. (декабрь–август), у *P. brachiomastus* — 6 мес. (март–август), у *P. minutus* — немного больше 4 мес. (май–сентябрь) (Korn et al., 2018; Kornienko et al., 2019; Корниенко, Селин, 2019). Личинки этих раков-отшельников встречаются в одно и то же время (в июне–октябре) (Корниенко, Корн, 2016) однако из-за репродуктивных особенностей видов динамика выхода личинок в планктон не-

сколько различается. У *P. proximus* и *P. brachiomastus* эмбриональная диапауза синхронизирует развитие яиц первого выводка, что обеспечивает массовый выход личинок в планктон в наиболее благоприятный период. В мае, когда у *P. proximus* возобновляется развитие яиц, все 100% самок несут на плеоподах яйца, поэтому выход в планктон личинок от первого нереста максимально синхронизирован. У *P. brachiomastus* к завершению эмбриональной диапаузы отнерестившимися являются только 80% самок, а 20% самок еще не приступали к нересту, поэтому выход личинок в планктон у этого вида менее синхронный. У обоих видов самки с яйцами на начальных стадиях развития встречались на протяжении всех летних месяцев, что указывает на вероятность повторного нереста (Корниенко, Селин, 2019; Kornienko et al., 2019). Третий вид *P. minutus* приступает к размножению только в мае, развитие яиц начинается сразу после вымета, личинки выходят в планктон несинхронно; в течение сезона самки вынашивают несколько кладок (Korn et al., 2018). Вероятно, даже небольшое различие между пиками оседания личинок симпатрических видов раков-отшельников может снизить конкуренцию за ресурс адекватных раковин. Однако не следует забывать о том, что развитие у личинок, появившихся в результате первого нереста при довольно низкой температуре воды, будет более продолжительным, чем у личинок повторного нереста, появившихся в более теплый период (Wear, 1974; Nakano et al., 2016), что сокращает время между периодом оседания потомства от первого и повторного нерестов.

Описывая фенологию размножения симпатрических раков-отшельников у побережья о-ва Сикоку (Япония), Вада с соавторами (Wada et al., 2005) заметили, что продолжительный сезон размножения можно объяснить более длительным периодом инкубации или большим количеством кладок в год. Эти два варианта определяют межвидовое изменение продолжительности репродуктивного периода, которое отражается в последующем различии времени высвобождения личинок и в ежегодном успехе размножения. Однако сравнение репродуктивных характеристик *P. proximus* из разных местообитаний показало, что при определенных условиях продолжительность сезона размножения определяется сочетанием данных вариантов. Так, в зал. Хакодате репродуктивный период у этого вида длится около 6 мес. за счет производства нескольких кладок, а развитие эмбрионов в каждой кладке занимает от 30 до 40 сут в зависимости от температуры воды (Wada, Mima, 2003). В зал. Восток (Россия) появление эмбриональной паузы в развитии *P. proximus*, приводящее к увеличению инкубационного периода в первом нересте, и наличие повторного нереста удлиняют репродуктивный период (вре-

мя встречаемости яйценосных самок) у этого вида до 9 мес. (Kornienko et al., 2019).

Массовые виды *P. proximus* и *P. minutus* широко распространены у побережья Японии, северной границей их распространения на материковом побережье является зал. Восток (Komai et al., 2015). Независимо от места обитания за сезон размножения эти раки-отшельники производят несколько кладок яиц. Изменение условий обитания обуславливает изменение фенологии репродуктивных событий у данных видов. У берегов Японии оба вида размножаются в холодное время года, яйца развиваются без периода покоя (Wada, Mima, 2003; Wada et al., 2005). В зал. Восток у *P. proximus* размножение также начинается зимой в декабре, однако инкубационный период яиц от зимнего нереста заметно удлиняется за счет эмбриональной диапаузы (Kornienko et al., 2019); у *P. minutus* развитие идет без диапаузы, но размножается этот вид в самое теплое время года (Korn et al., 2018). Следовательно, фенология размножения симпатрических видов в разных местах обитания различается и эти особенности у каждого вида свои.

Таким образом, вариации репродуктивных характеристик симпатрических раков-отшельников, в частности, различия во времени появления яйценосных самок, выхода личинок и периода их нахождения в планктоне, сокращают межвидовую конкуренцию за ресурсы среди оседающих и недавно осевших особей. Для одних видов это достигается сохранением репродуктивных характеристик, приобретенных в аллопатрии, а для других — смещением признаков в симпатрии. Климатические условия умеренных широт в первую очередь отражаются на длительности личиночного развития и периода, благоприятного для оседания личинок, и лишь затем на продолжительности репродуктивного периода. Изменения репродуктивной фенологии вида в разных местообитаниях позволяют корректировать время оседания личинок в соответствии с местными условиями. Снижению межвидовой конкуренции, вероятно, способствует и поведение личинок, играющее важную роль при выборе места оседания, однако механизмы, определяющие их поведение, как и связь экологии личинок с фенологией размножения, недостаточно изучены.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет 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

- Волвенко И.В. Механизмы регуляции динамики численности и продукционная биология раков-отшельников. Владивосток: Дальнаука. 1995. 248 с.
- Корн О.М., Корниенко Е.С., Шербакова Н.В. Ключ для определения личинок крабов и крабидов в весеннем планктоне залива Петра Великого Японского моря // Биол. моря. 2010. Т. 36. № 5. С. 368–376.
- Корниенко Е.С., Корн О.М. Ключ к определению зооа массовых видов раков-отшельников (Decapoda: Paguroidea) залива Восток (Японское море) // Биол. моря. 2016. Т. 42. № 5. С. 419–426.
- 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.
- Селин Н.И. Состав и плотность поселения рака-отшельника *Pagurus proximus* Komai, 2000 в эпибиозе бурой водоросли *Costaria costata* (C. Agardh) de A. Saunders, 1895 в сублиторали залива Восток Японского моря // Биол. моря. 2017. Т. 43. № 6. С. 430–435.
- 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.
- Alcaraz G., Kruesi K. Niche overlap and resource partitioning between two intertidal hermit crab species // J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 2019. V. 99. № 1. P. 135–142.
- Angel J.E. Effects of shell fit on the biology of the hermit crab *Pagurus longicarpus* (Say) // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 2000. V. 243. P. 169–184.
- Anger K. Growth and exuvial loss during larval and early juvenile development of the hermit crab *Pagurus bernhardus*, reared in the laboratory // Mar. Biol. 1989. V. 103. P. 503–511.
- Anger K. The biology of decapod crustacean larvae. Crustacean issues. V. 14. Lisse, The Netherlands: A.A. Balke-ma. 2001. 419 p.
- Anger K. Contributions of larval biology to crustacean research: a review // Invertebr. Reprod. Dev. 2006. V. 49. № 3. P. 175–205.
- Arce E.U., Alcaraz G. Plasticity of shell preference and its antipredatory advantages in the hermit crab *Calcinus californiensis* // Can. J. Zool. 2013. V. 91. P. 321–327.
- Arce E., Córdoba-Aguilar A. The right choice: predation pressure drives shell selection decisions in the hermit crab *Calcinus californiensis* // Can. J. Zool. 2018. V. 96. P. 454–459.
- Asakura A. Preliminary observations on the offshore mass migration of the sand-dwelling hermit crab, *Diogenes nitidimanus* Terao (Crustacea Decapoda: Anomura) // J. Ethol. 1987. V. 5. P. 207–209.
- Asakura A. Population ecology of the sand-dwelling hermit crab *Diogenes nitidimanus*. IV. Larval settlement // Mar. Ecol.: Prog. Ser. 1991. V. 78. P. 139–146.
- Asakura A. Sexual differences in life history and resource utilization by the hermit crab // Ecology. 1995. V. 76. № 7. P. 2295–2313.
- Benoit M.D., Peeke H.V.S., Chang E.S. Use of chemical cues for shell preference by the hermit crab, *Pagurus samuelis* //

- Mar. Freshwater Behav. Physiol. 1997. V. 30. № 1. P. 45–54.
- Bertness M.D. The influence of shell-type on hermit crab growth rate and clutch size (Decapoda, Anomura) // Crustaceana. 1981. V. 40. № 2. P. 197–205.
- Bulinski K.V. Shell-selection behavior of the hermit crab *Pagurus granosimanus* in relation to isolation, competition and predation // J. Shellfish Res. 2007. V. 26. № 1. P. 233–239.
- Carlson D., Ebersole J.P. Life-history variation among three temperate hermit crabs: the importance of size in reproductive strategies // Biol. Bull. 1995. V. 188. P. 329–337.
- Childress J.R. Behavioral ecology and fitness theory in a tropical hermit crab // Ecology. 1972. V. 53. P. 960–964.
- Chunco A.J., Jobe T., Pfennig K.S. Why do species co-occur? A test of alternative hypotheses describing abiotic differences in sympatry versus allopatry using spadefoot toads // PLoS One. 2012. V. 7. № 3. Art. ID e32748.
- Conover M.R. The importance of various shell characteristics to the shell-selection behavior of hermit crabs // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 1978. V. 32. № 2. P. 131–142.
- Dominciano L.C.C., Sant'Anna B.S., Turra A. Are the preference and selection patterns of hermit crabs for gastropod shells species- or site-specific? // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 2009. V. 378. P. 15–21.
- Elwood R.W., Marks N., Dick J.T.A. Consequences of shell-species preferences for female reproductive success in the hermit crab *Pagurus bernhardus* // Mar. Biol. 1995. V. 123. № 3. P. 431–434.
- Elwood R.W., McClean A., Webb L. The development of shell preferences by the hermit crab *Pagurus bernhardus* // Anim. Behav. 1979. V. 27. P. 940–946.
- Forward R.B., Tankersley R.A., Rittschof D. Cues for metamorphosis of brachyuran crabs: an overview // Am. Zool. 2001. V. 41. P. 1108–1122.
- Fotheringham N. Structure of seasonal migrations of the littoral hermit crab *Clibanarius vittatus* (Bose) // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 1975. V. 18. P. 47–53.
- Fotheringham N. Population consequences of shell utilization by hermit crabs // Ecology. 1976. V. 57. P. 570–578.
- Gebauer P., Giménez L., Hinojosa I., Paschke K. Settlement and metamorphosis in barnacles and decapods // The natural history of the Crustacea. V. 7. Developmental biology and larval ecology. New York: Oxford Univ. Press. 2020. P. 223–253.
- Gherardi F. Competition and coexistence in two Mediterranean hermit crabs, *Calcinus ornatus* (Roux) and *Clibanarius erythropus* (Latreille) (Decapoda, Anomura) // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 1990. V. 143. P. 221–238.
- Gherardi F. Hermit crab larval behavior: depth regulation in *Discorsopagurus schmitti* (Stevens) // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 1995. V. 192. P. 107–123.
- Gherardi F., Nardone F. The question of coexistence in hermit crabs: population ecology of a tropical intertidal assemblage // Crustaceana. 1997. V. 70. № 5. P. 608–629.
- Goshima S., Wada S., Ohmori H. Reproductive biology of the hermit crab *Pagurus nigrofascia* (Anomura: Paguridae) // Crustacean Res. 1996. № 25. P. 86–92.
- Harvey A.W. Delayed metamorphosis in Florida hermit crabs: multiple cues and constraints (Crustacea: Decapoda: Paguridae and Diogenidae) // Mar. Ecol.: Prog. Ser. 1996. V. 141. P. 27–36.
- Harvey A.W., Colasurdo E.A. Effects of shell and food availability on metamorphosis in the hermit crabs *Pagurus hirsutiusculus* and *Pagurus granosimanus* // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 1993. V. 165. P. 237–249.
- Hasegawa H., Wada S., Aoki M., Wada K. Regional variation in preference for gastropod shell species in the hermit crab *Pagurus filholi* // J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 2011. V. 91. № 4. P. 893–896.
- Hazlett B. The behavioral ecology of hermit crabs // Annu. Rev. Ecol. Syst. 1981. V. 12. P. 1–22.
- Imazu M., Asakura A. Distribution, reproduction and shell utilization patterns in three species of intertidal hermit crabs on a rocky shore on the Pacific coast of Japan // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 1994. V. 184. P. 41–65.
- Kaiser M.J., Ramsay K., Hughes R.N. Can fisheries influence interspecific competition in sympatric populations of hermit crabs? // J. Nat. Hist. 1998. V. 32. № 4. P. 521–531.
- Kellogg C.W. Coexistence in a hermit crab species ensemble // Biol. Bull. 1977. V. 153. P. 133–144.
- 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., Korn O.M. The larval development of the hermit crab *Areopaguristes nigroapiculus* (Decapoda: Anomura: Diogenidae) reared under laboratory conditions // J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 2011. V. 91. № 5. P. 1031–1039.
- 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.
- Laidre M.E. Homes for hermits: temporal, spatial and structural dynamics as transportable homes are incorporated into a population // J. Zool. 2012. V. 288. № 1. P. 33–40.
- Laidre M.E. Foraging across ecosystems: diet diversity and social foraging spanning aquatic and terrestrial ecosystems by an invertebrate // Mar. Ecol. 2013. V. 34. P. 80–89.
- Lancaster I. Reproduction and life history strategy of the hermit crab *Pagurus bernhardus* // J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 1990. V. 70. P. 129–142.
- Lancaster I., Wigham G.D. Influences on movement and migration in the hermit crab *Pagurus bernhardus* // J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 1990. V. 70. P. 483–491.
- Lima D.J.M., Alves D.F.R., Cobo V.J. Composition, density, and shell use of hermit crabs (Crustacea: Paguroidea)

- from subtidal boulder fields in southeastern Brazil // Lat. Am. J. Aquat. Res. 2018. V. 46. № 1. P. 72–82.
- Lima D.J.M., Cobo V.J., De Aquino M.A.B., Fransozo A. The population structure of two sympatric hermit-crab species on a subtidal rocky shore of an island in southeastern Brazil // Ann. Braz. Acad. Sci. 2014. V. 86. № 4. P. 1769–1782.
- Macpherson E., Raventos N. Population structure and reproduction of three sympatric species of hermit crabs in the north-western Mediterranean // J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 2004. V. 84. P. 371–376.
- Mantelatto F.L., Dominciano L.C.C. Pattern of shell utilization by the hermit crab *Paguristes tortugae* (Diogenidae) from Anchieta Island, southern Brazil // Sci. Mar. 2002. V. 66. № 3. P. 265–272.
- Markham J.C. Notes on the growth pattern and shell-utilization of the hermit crab *Pagurus bernhardus* (L.) // Ophelia. 1968. V. 5. P. 189–205.
- Mima A., Wada S., Goshima S. Antipredator defence of the hermit crab *Pagurus filholi* induced by predatory crabs // Oikos. 2003. V. 102. P. 104–110.
- Nakano R., Yasuda C.I., Koga T. Temporal changes in egg number and size during a single breeding season in the hermit crab *Pagurus minutus* // Jpn. J. Benthol. 2016. V. 71. P. 32–36.
- Oba T., Goshima S. Temporal and spatial settlement patterns of sympatric hermit crabs and the influence of shell resource availability // Mar. Biol. 2004. V. 144. P. 871–879.
- Peres P.A.S., Ferreira A.P., Leite F.P.P. Expanding the ‘shell exchange market’ hypothesis for clustering behavior in intertidal hermit crabs: mating and tide as proximate factors // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 2018. V. 500. P. 100–104.
- Pfennig D.W., Murphy P.J. A test of alternative hypotheses for character divergence between coexisting species // Ecology. 2003. V. 84. № 5. P. 1288–1297.
- Pfennig D.W., Pfennig K.S. Development and evolution of character displacement // Ann. N. Y. Acad. Sci. 2012. V. 1256. № 1. P. 89–107.
- Ramsay K., Kaiser M.J., Hughes R.N. A field study of intra-specific competition for food in hermit crabs (*Pagurus bernhardus*) // Estuarine, Coastal Shelf Sci. 1997. V. 44. № 2. P. 213–220.
- Reese E.S. Annual breeding seasons of three sympatric species of tropical intertidal hermit crabs, with a discussion of factors controlling breeding // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 1968. V. 2. P. 308–318.
- Reese E.S. Behavioral adaptations of intertidal hermit crabs // Am. Zool. 1969. V. 9. № 2. P. 343–355.
- Roberts M.H. Larval development of *Pagurus longicarpus* say reared in the laboratory. IV. Aspects of the ecology of the megalopa // Biol. Bull. 1971. V. 141. P. 162–166.
- Rodrigues G.F.B., Ballarin C.S., Fransozo A., Amorim F.W. Structural patterns of a coastal hermit crab–gastropod shell interaction network: new insights from a unique relationship // Mar. Ecol.: Prog. Ser. 2020. V. 640. P. 117–126.
- Rodríguez S.R., Ojeda F.P., Inestrosa C. Settlement of marine benthic invertebrates // Mar. Ecol.: Prog. Ser. 1993. V. 97. P. 193–207.
- Rotjan R.D., Blum J., Lewis S.M. Shell choice in *Pagurus longicarpus* hermit crabs: does predation threat influence shell selection behavior? // Behav. Ecol. Sociobiol. 2004. V. 56. № 2. P. 171–176.
- Sponaugle S., Cowen R.K., Shanks A. et al. Predicting self-recruitment in marine populations: biophysical correlates and mechanisms // Bull. Mar. Sci. 2002. V. 70. № 1. Suppl. P. 341–375.
- Stanski G., Mantelatto F.L., Castilho A.L. Habitat heterogeneity in the assemblages and shell use by the most abundant hermit crabs (Anomura: Diogenidae and Paguridae): does the occupied shell species differ according to gender and species? // Nauplius. 2016. V. 24. Art. ID e2016004.
- Taylor P.R. Hermit crab fitness: the effect of shell condition and behavioral adaptations on environmental resistance // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 1981. V. 52. P. 205–218.
- Teoh H.W., Chong V.C. Shell use and partitioning of two sympatric species of hermit crabs on a tropical mudflat // J. Sea Res. 2014. V. 86. P. 13–22.
- Teoh H.W., Hussein M.A.S., Chong V.C. Influence of habitat heterogeneity on the assemblages and shell use of hermit crabs (Anomura: Diogenidae) // Zool. Stud. 2014. V. 53. <http://www.zoologicalstudies.com/content/53/1/67>
- Tran M.V., O’Grady M., Colborn J. et al. Aggression and food resource competition between sympatric hermit crab species // PLoS One. 2014. V. 9. № 3. Art. ID e91823.
- Tudge C.C., Asakura A., Ahyong S.T. Infraorder Anomura MacLeay, 1838 // The Crustacea. Leiden; Boston: Brill. 2012. V. 9. Part B. P. 221–335.
- Turra A., Denadai M.R. Desiccation tolerance of four sympatric tropical intertidal hermit crabs (Decapoda, Anomura) // Mar. Freshwater Behav. Physiol. 2001. V. 34. P. 227–238.
- Turra A., Denadai M.R. Substrate use and selection in sympatric intertidal hermit crab species // Braz. J. Biol. 2002. V. 62. № 1. P. 107–112.
- Turra A., Denadai M.R. Daily activity of four tropical intertidal hermit crabs from Southeastern Brazil // Braz. J. Biol. 2003. V. 63. № 3. P. 537–544.
- Turra A., Jacobucci G.B., F. Araújo M.P., Leite F.P.P. Spatial distribution of four sympatric species of hermit crabs (Decapoda, Anomura) // The biodiversity crisis and Crustacea. Rotterdam: A. A. Balkema. 2000. P. 261–273.
- Turra A., Leite F.P.P. Population biology and growth of three sympatric species of intertidal hermit crabs in south-eastern Brazil // J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 2000. V. 80. P. 1061–1069.
- Turra A., Leite F.P.P. The molding hypothesis: linking shell use with hermit crab growth, morphology, and shell-species selection // Mar. Ecol.: Prog. Ser. 2003. V. 265. P. 155–163.
- Turra A., Leite F.P.P. Shell-size selection by intertidal sympatric hermit crabs // Mar. Biol. 2004. V. 145. № 2. P. 251–257.
- Valère-Rivet M.G., Juma D., Dunbar S.G. Thermal tolerance of the hermit crab *Pagurus samuelis* subjected to shallow burial events // Crustacean Res. 2017. V. 46. P. 65–82.

- Vance R.R. The role of shell adequacy in behavioral interactions involving hermit crabs // *Ecology*. 1972. V. 53. P. 1075–1083.
- Vinuesa J.H., Varisco M., Escriche F. Settlement and recruitment of the crab *Halicarcinus planatus* (Crustacea: Decapoda: Hymenosomatidae) in Golfo San Jorge, Argentina // *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 2011. V. 91. № 3. P. 685–690.
- Wada S., Kitaoka H., Goshima S. Reproduction of the hermit crab *Pagurus lanuginosus* and comparison of reproductive traits among sympatric species // *J. Crustacean Biol.* 2000. V. 20. P. 474–478.
- Wada S., Mima A. Reproductive characters *Pagurus proximus* Komai, 2000 in Hokkaido, Japan // *Crustacean Res.* 2003. № 32. P. 73–78.
- Wada S., Mima A., Ito A. Reproductive phenology of sympatric hermit crabs in temperate Japan // *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 2005. V. 85. P. 889–894.
- Wada S., Ohmori H., Goshima S., Nakao S. Shell-size preference of hermit crabs depends on their growth rate // *Anim. Behav.* 1997. V. 54. P. 1–8.
- Wear R.G. Incubation in British decapod Crustacea, and the effects of temperature on the rate of success of embryonic development // *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 1974. V. 54. P. 745–762.
- Worcester S.E., Gaines S.D. Quantifying hermit crab recruitment rates and megalopal shell selection on wave-swept shores // *Mar. Ecol.: Prog. Ser.* 1997. V. 157. P. 307–310.
- Yoshino K., Goshima S., Nakao S. The interaction between shell size and shell species preferences of the hermit crab *Pagurus filholi* // *Benthos Res.* 1999. V. 54. № 1. P. 37–44.
- Yoshino K., Goshima S. Functional roles of gastropod shells in the hermit crab *Pagurus filholi*: effects of shell size and species on fitness // *Benthos Res.* 2001. V. 56. № 2. P. 87–93.
- Yoshino K., Koga T., Taniguchi K., Tasaka R. Adaptation in a peripheral habitat: intraspecific variation in osmoregulatory traits in an estuarine hermit crab (*Pagurus minutus*) // *J. Shellfish Res.* 2014. V. 33. P. 53–59.
- Zenone A., Badalamenti F., Giacalone V.M. et al. Substrate preference and settlement behaviour of the megalopa of the invasive crab *Percnon gibbesi* (Decapoda, Percnidae) in the Mediterranean Sea // *Helgol. Mar. Res.* 2016. V. 70. Art. ID 21. <https://doi.org/10.1186/s10152-016-0472-9>

## Larval Settlement and Reproductive Phenology of Sympatric Hermit Crabs in Temperate Waters

E. S. Kornienko

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

The problem of the coexistence of closely related species of Paguroidea (Decapoda: Anomura) and the main mechanisms of structuring the communities of these species in sympatry are discussed: differential use of habitats, competition for resources, and physiological resistance to abiotic factors. It is thought that the competition for gastropod shells among hermit crabs may be particularly high at the larval settlement stage. This review discusses the peculiarities of larval settlement, reproductive phenology, and differences in reproductive characteristics of hermit crabs, which allow sympatric species in temperate waters to reduce the competition for shell resource in the early life stages.

**Keywords:** Paguroidea, coexistence, competition, incubation period, embryonic diapause, larval settlement

УДК 597.562.591.134

## СМЕРТНОСТЬ ИКРИНОК МИНТАЯ *GADUS CHALCOGRAMMUS* PALLAS, 1814 В ТЕЧЕНИЕ ЭМБРИОГЕНЕЗА В ВОДАХ ЗАПАДНОГО ПОБЕРЕЖЬЯ КАМЧАТКИ

© 2021 г. А. В. Буслов<sup>а</sup>, \*, А. В. Смирнов<sup>а</sup>

<sup>а</sup>Тихоокеанский филиал ФГБНУ «ВНИРО» (ТИНРО), Владивосток 690091, Россия

\*e-mail: aleksandr.buslov@tinro-center.ru

Поступила в редакцию 03.06.2020 г.

После доработки 01.02.2021 г.

Принята к публикации 10.02.2021 г.

В апреле–мае 2019 г. в период массового икрометания минтая *Gadus chalcogrammus* на нерестилище у западного побережья Камчатки было выполнено пять последовательных ихтиопланктонных съемок. На основе оценок численности икры минтая получены величины ее суточной продукции для каждой из съемок. Рассчитаны общая за нерестовый сезон продукция и смертность икры в процессе эмбриогенеза. Максимальные коэффициенты смертности определены для икринок на I и III стадиях развития. Общая убыль составила 86.8% от числа выметанных икринок. Полученные результаты позволяют существенно улучшить качество оценок нерестового запаса охотоморского минтая.

**Ключевые слова:** икра минтая, продолжительность стадий развития, эмбриогенез, величина смертности и выживаемости

**DOI:** 10.31857/S0134347521040045

В водах шельфа западного побережья Камчатки функционирует одно из крупнейших в бассейне Охотского моря нерестилищ минтая *Gadus chalcogrammus* (Pallas, 1814) (Фадеев, 1987; Фадеев, Смирнов, 1987; Шунтов и др., 1993). В этом районе ежегодно проводятся ихтиопланктонные съемки по учету развивающейся икры с целью оценки численности производителей (Фадеев, 1999). Одним из важных параметров, который следует использовать при интерпретации результатов ихтиопланктонных съемок у западной Камчатки, является оценка убыли икринок, выметанных до начала учетов. Предполагается, что игнорирование этого показателя может быть причиной значительного занижения численности нерестового запаса (Кузнецов и др., 2008). Проблема смертности икры минтая в процессе эмбриогенеза до настоящего времени недостаточно изучена. Существует мнение, что в водах западной Камчатки на начальной стадии развития (первые 5–8 сут) погибает 74–85% выметанных икринок минтая, а неучтенная убыль может приводить к недооценке общего количества выметанной икры в 2–10 раз (Лисовенко, 2000; Привалихин и др., 2001). При этом авторы отмечают, что приведенные цифры весьма приблизительны, поскольку для более точной оценки выживаемости икринок необходимо проведение повторных ихтиопланктонных съемок с разницей во времени, близкой к продол-

жительности одной стадии развития, чего не обеспечивали имевшиеся у них материалы. Цель настоящего исследования – оценка смертности развивающихся икринок минтая как на отдельных стадиях развития, так и за весь период эмбриогенеза у западного побережья Камчатки.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В апреле–мае 2019 г. у западного побережья Камчатки на научно-исследовательском судне «Дмитрий Песков» было выполнено пять ихтиопланктонных съемок по стандартной сетке станций (67 станций), охватывающей площадь 53 тыс. км<sup>2</sup> (табл. 1). Полигон был ограничен координатами 51°00′–57°00′ с.ш., изобатой 20 м с востока и 154°30′ в.д. с запада. Исследования проводили по широтным разрезам с юга на север. При завершении съемки в крайней северной точке судно возвращалось на южный разрез и приступало к следующей съемке. Вертикальные обловы ихтиопланктона выполняли сетью ИКС-80 в слое дно – поверхность (над изобатами менее 200 м) или 200 м – поверхность (над изобатами глубже 200 м). Для учета икринок от возможного глубоководного нереста минтая в южной части полигона (южнее 52° с.ш.) облавливали слой 500–0 м (Буслов, Тепнин, 2002). Температуру воды в слое

**Таблица 1.** Сроки проведения ихтиопланктонных съемок у западного побережья Камчатки в 2019 г.

№ съемки	Начало	Окончание	Средняя дата съемки
1	1 апреля	5 апреля	3 апреля
2	8 апреля	13 апреля	11 апреля
3	15 апреля	23 апреля	19 апреля
4	24 апреля	30 апреля	27 апреля
5	1 мая	7 мая	4 мая

облова измеряли через 1 м гидрологическим зондом “SBE-19”.

Икринки минтая выбирали из улова и подсчитывали, определяли стадии их развития и фиксировали в 4% растворе формальдегида. Стадии развития икринок определяли с помощью бинокля “Olimpus SZ30” по четырехбалльной шкале Расса, адаптированной для минтая (Расс, Казанова, 1966; Буслов, Сергеева, 2013). С этой целью отбирали 200 икринок, в случае меньших уловов рассматривали все икринки.

Численность икринок на акватории съемок рассчитывали с помощью метода сплайн-аппроксимации, реализованного в геоинформационной системе “КАРТМАСТЕР” (Бизиков, Поляков, 2004).

Продолжительность стадий развития икринок в зависимости от температуры воды определяли по уравнениям, подобранным для каждой стадии (Буслов, Сергеева, 2013). Среднюю температуру воды, при которой развивались икринки в период съемок, определяли для каждой стадии. При расчете возраста икринок и даты начала нереста принимали, что в момент поимки икринки находились в середине соответствующей стадии развития.

Для каждой съемки рассчитывали суточную продукцию икринок ( $P$ ) по стадиям развития как отношение учтенного количества икринок ( $N$ )  $i$ -й стадии на всей акватории съемки к продолжительности этой стадии (Лисовенко, 2000). При моделировании кривых суточной продукции допустили, что полученные величины приходятся на среднюю дату проведения съемки.

Поскольку динамика суточной продукции икринок минтая в течение нерестового периода пропорциональна плотности нормального распределения (Антонов, Золотов, 1987; Picquelle, Megre, 1993; Буслов и др., 2004), для построения кривой суточной продукции икринок использовали функцию нормального распределения Гаусса:  $y = be^{hx - a^2}$ , где  $y$  – суточная продукция икры ( $\times 10^{12}$  экз.);  $x$  – дни от начала нереста (сут);  $a$  – продолжительность нерестового периода до пика (сут);  $b$  – высота пика, выражающаяся через общую продукцию ( $\times 10^{12}$  экз.);  $h$  – коэффициент, определяющий изгиб кривой. Коэффициент рассчитан по методу избранных точек посредством

минимизации суммы квадратов отклонений модельных оценок суточной продукции от наблюдаемых (Зайцев, 1984).

Абсолютную величину общей убыли определяли как разницу между суммарной продукцией икринок предыдущей и последующей стадий (Лисовенко, 2000). При этом на продукционной кривой предыдущей стадии отсекали последний временной отрезок, который необходим икринкам для перехода с середины одной стадии до середины следующей стадии.

При расчетах мгновенных (суточных) коэффициентов убыли ( $Z$ ) исходили из условия, что смертность за весь период имеет экспоненциальный характер. Суточную выживаемость икринок на  $i$ -й стадии развития определяли как корень в степени  $N_i - 1$  из выживаемости за период прохождения  $i$ -й стадии ( $N_i$  – длительность  $i$ -й стадии при зарегистрированной температуре воды). Численное представление смертности ( $A$ ) через выживание ( $S$ ) выражали отношением:  $N_i/N_0 = S = 1 - A$ , где  $N_0$  – начальная численность икринок, а  $N_i$  – численность икринок через период времени  $t$  (Рикер, 1979).

Информация о средней плодовитости самок и средней массе производителей минтая в нерестовый период у западного побережья Камчатки в 2019 г. любезно предоставлена заведующим Лабораторией минтая и сельди Тихоокеанского филиала ФГБНУ “ВНИРО” (“ТИНРО”) Е.Е. Овсянниковым.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Средняя температура воды в период проведения съемок изменялась в узких пределах. Развитие икринок проходило преимущественно при положительных значениях температуры около  $1^\circ\text{C}$ , за исключением первых трех съемок, когда икринки на I стадии облавливались при слабоотрицательной температуре воды (табл. 2). Продолжительность стадий развития варьировала незначительно, размах колебаний между разными съемками, как правило, не превышал 1.5 сут. Поимка икринок на IV стадии развития во время 1-й съемки дает основание считать, что нерест минтая в 2019 г. начался не позднее 1 марта. Даты по-

**Таблица 2.** Средняя температура воды ( $t$ , °C) и длительность ( $T$ , сут) стадий развития икринок минтая (I–IV) у западного побережья Камчатки в 2019 г.

№ съемки	I		II		III		IV	
	$t$	$T$	$t$	$T$	$t$	$T$	$t$	$T$
1	–0.29	9.4	0.32	7.9	0.61	10.9	0.60	10.0
2	–0.21	9.2	0.25	8.0	0.47	11.2	0.58	10.1
3	–0.04	8.9	0.09	8.3	0.43	11.3	1.49	7.3
4	0.40	8.0	0.18	8.1	0.10	12.1	0.46	10.5
5	0.55	7.9	0.53	7.6	0.49	11.1	0.75	9.6

**Таблица 3.** Численность ( $N$ ,  $\times 10^{12}$  экз.) и суточная продукция ( $P$ ,  $\times 10^{12}$  экз.) икринок минтая разных стадий развития (I–IV) у западного побережья Камчатки в 2019 г.

№ съемки	I		II		III		IV	
	$N$	$P$	$N$	$P$	$N$	$P$	$N$	$P$
1	73.7	7.8	11.8	1.5	2.0	0.2	0.02	0.002
2	95.8	10.4	27.0	3.4	7.7	0.7	0.1	0.01
3	96.0	10.8	54.1	6.5	30.9	2.7	4.0	0.6
4	64.6	8.1	60.3	7.4	41.8	3.5	8.3	0.8
5	55.9	7.1	66.4	8.7	49.9	4.5	12.6	1.3

явления в ихтиопланктоне икринок на II, III и IV стадиях развития, исходя из их продолжительности, пришлось на 10, 18 и 29 марта.

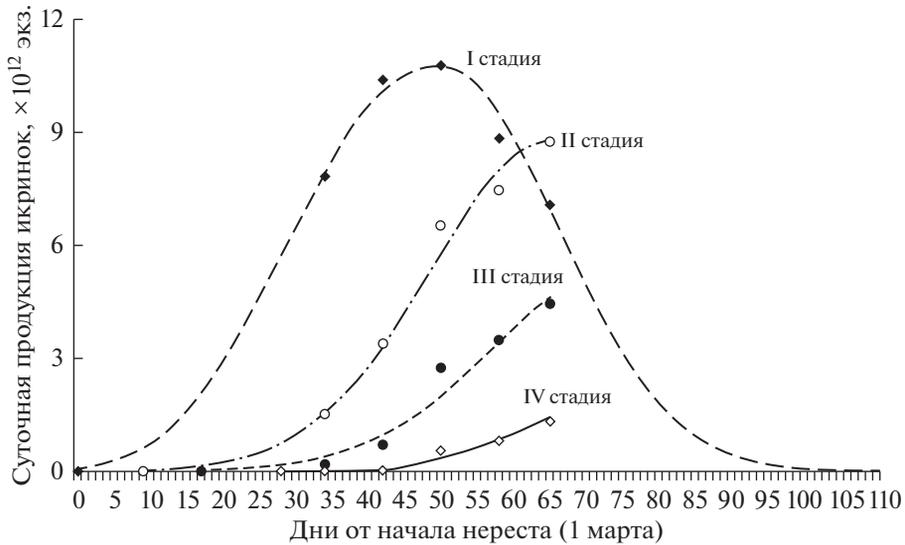
Численность икринок на I стадии развития, характеризующей интенсивность нереста, увеличивалась в первой половине апреля и снижалась во второй половине месяца (табл. 3). Значения суточной продукции икры на этой стадии свидетельствуют о том, что исследования включали период нарастания массового икрометания, его разгар и снижение. Пик нереста пришелся на третью съемку, т.е. на 19 апреля. Численность и суточная продукция икринок на II–IV стадиях увеличивались от первой к последней съемке.

Моделирование динамики продукции икры показало снижение значений от I к IV стадии со смещением по оси абсцисс, что характеризует последовательную убыль икринок в процессе эмбриогенеза (рис. 1, табл. 4). Численность икринок I, II, III и IV стадий развития, продуцированных с момента появления в ихтиопланктоне и до 4 мая (средняя дата последней съемки), оценена в 397.3, 186.7, 70.9 и  $15.2 \times 10^{12}$  экз. соответственно. Разница между суммарной продукцией икринок на смежных стадиях с учетом их продолжительности равна величине общей смертности, которая в разные периоды эмбриогенеза продолжительностью 9–11 сут колебалась от 30 до 50% (табл. 5). Полученные величины характеризуют темп убыли икринок с середины I стадии развития до середины IV стадии. В наблюдавшихся температурных

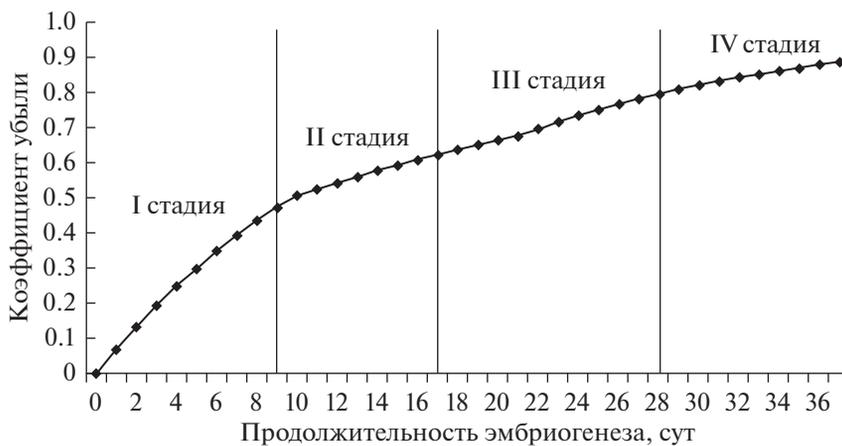
условиях этот период составлял 30 сут или 81% всего периода эмбриогенеза. Если допустить, что в начале I стадии и в конце IV стадии значения мгновенных коэффициентов убыли ( $Z$ ) близки к расчетным (0.069 и 0.064 соответственно), то кривая посуточной убыли икры для всего периода эмбриогенеза, а также для отдельных стадий (рис. 2, табл. 6) свидетельствует о том, что общая смертность икринок от вымета до выклева составила 86.8%, а более половины погибшей икры приходилось на I стадию развития.

## ОБСУЖДЕНИЕ

В работе Балыкина (1993) приведена ссылка на неопубликованные данные О.Г. Золотова, согласно которым у западного побережья Камчатки выживаемость икринок стадии IV относительно стадии I составляла 18.6%. В статье отсутствует информация о том, к какому периоду стадий приведены расчеты (начальный, конечный или его середина), однако величина убыли близка к полученным нами результатам. По другим районам обитания минтая данные о величине смертности икринок за период эмбрионального развития также немногочисленны. Для минтая, нерестящегося на шельфе юго-восточного побережья Камчатки, величина убыли на IV стадии относительно стадии I оценена в 89.3% (Антонов, 1991), а для глубоководных каньонов этого же района она составляет 95.4% (Буслов и др., 2004). Аналогичный показатель для нерестилища в юго-запад-



**Рис. 1.** Эмпирическая (точки) и расчетная (линии) динамика суточной продукции икринок минтая на разных стадиях развития (I–IV) у западного побережья Камчатки в 2019 г.



**Рис. 2.** Кривая общей смертности икринок минтая в течение эмбриогенеза у западного побережья Камчатки в 2019 г.

ной части Берингова моря – 95.4–97.5% (Балыкин, 1993). Однако в последнем случае автор считает его завышенным из-за недооценки икринок

поздних стадий. В прол. Шелихова западной части зал. Аляска оценки общей убыли икринок, полученные по расчетам через продукцию за не-

**Таблица 4.** Коэффициенты уравнения кривой Гаусса для суточной продукции икринок минтая по стадиям развития (I–IV)

Стадия развития	Коэффициенты функции Гаусса			SE
	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>h</i>	
I	50	10.79	–0.0015	0.148
II	65	8.74	–0.0018	0.178
III	75	5.43	–0.0016	0.166
IV	82	2.50	–0.0021	0.044

Примечание. SE – стандартная ошибка уравнения.

**Таблица 5.** Смертность икринок минтая в отдельные периоды эмбриогенеза в водах западного побережья Камчатки в 2019 г.

Показатель	Период эмбриогенеза		
	от середины I до середины II стадии	от середины II до середины III стадии	от середины III до середины IV стадии
Длительность периода, сут	9	10	11
Убыль икры, $\times 10^{12}$ экз.	144.7	32.7	17.1
Коэффициент общей смертности (A)	0.437	0.321	0.484
Мгновенный коэффициент (Z)	0.069	0.038	0.064

**Таблица 6.** Смертность икринок минтая по стадиям развития (I–IV)

Параметр	I	II	III	IV
Коэффициент убыли за стадию	0.475	0.286	0.439	0.371
Вклад стадии в общую смертность, %	54.7	17.3	19.0	9.0

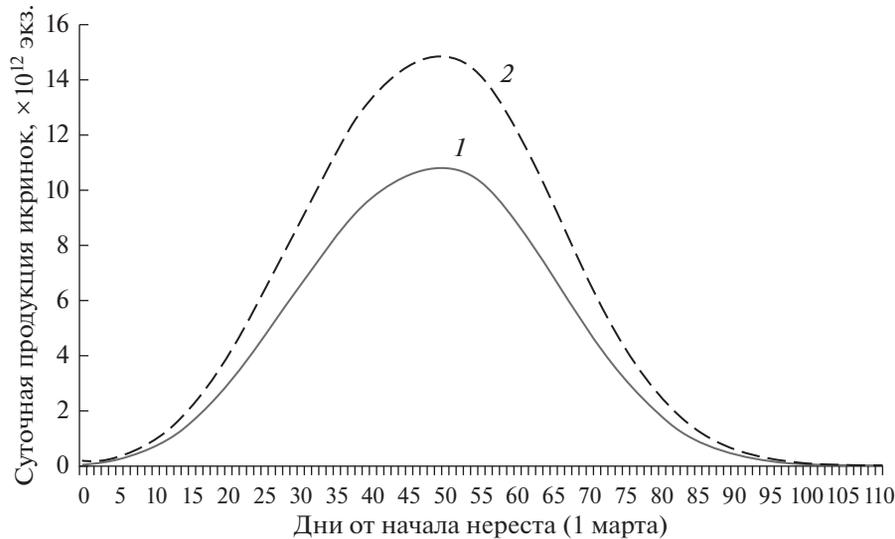
рестовый сезон, колебались в течение ряда лет от 62 до 98% (Picquelle, Megrey, 1993). По-видимому, на шельфовых нерестилищах в разных частях ареала уровень общей смертности икринок минтая относительно близок и варьирует от 70 до 90%.

Убыль икры в процессе эмбриогенеза изменяется неравномерно. Наибольшие коэффициенты убыли характерны для I и III стадий развития, а минимальные значения приходятся на II стадию (табл. 6). Очевидно, что значения коэффициентов в первую очередь связаны с продолжительностью стадий, которая в нашем исследовании в среднем составляла 9, 8, 11 и 9 сут (в соответствии с их последовательностью). Однако максимальную смертность икры на I стадии можно объяснить не ее продолжительностью, а критическим периодом в развитии, приходящимся на данный этап эмбриогенеза. Ранее отмечали, что основная убыль икринок наблюдается в период между морулой и началом гастрюляции, т.е. приурочена к процессу дифференциации клеток бластодиска и приходится примерно на середину I стадии (Буслов, Сергеева, 2013). Японские исследователи в экспериментах по инкубированию икры минтая также выделяли морулу как критический период эмбриогенеза (Nakatani, Maeda, 1984). Причины этого неизвестны, однако данные о гибели в течение первых 4–6 сут развития около половины выметанной минтаем икры подтверждают и другие авторы (Brodeur et al., 1996).

В ходе дальнейшего развития смертность икринок снижается приблизительно на 50% и остается такой до середины III стадии, затем вновь увеличивается (рис. 2). Последнее обстоятельство может быть связано с процессом роста эмбриона и началом пигментации глаз и головы (Буслов, Сергеева, 2013). В данный период икринка стано-

вится заметнее в толще воды, вследствие этого увеличивается вероятность ее гибели от хищников, из которых основными являются гиперииды, эвфаузииды и амфиподы (Brodeur, Merati, 1993). Известно также о каннибализме минтая по отношению к развивающейся икре (Балькин, 1997; Волков и др., 2003). Однако исследования показали, что масштабы выедания икринок минтая представителями нектона и медузами невелики и составляют не более 1–2% сезонной продукции икринок (Brodeur et al., 1996; Буслов и др., 2004; Горбатенко и др., 2012).

Оценки убыли, полученные в нашем исследовании, позволяют вернуться к вопросу о масштабах занижения нерестового запаса при расчетах, не учитывающих смертность развивающихся икринок. Согласно кривой, построенной по результатам пяти съемок, суммарная продукция икринок на I стадии развития за нерестовый сезон 2019 г. составила  $467.2 \times 10^{12}$  экз. (рис. 1). Поскольку при расчетах исходили из того, что на момент поимки все икринки в среднем достигли середины стадии, то их возраст может быть оценен в 4.0–4.7 сут (табл. 2). Следовательно, в расчетах не были учтены икринки I стадии развития, погибшие за это время. Исходя из посуточной кривой убыли (рис. 2), можно восстановить численность икринок через коэффициенты выживания учтенной икры, которые в зависимости от продолжительности стадии изменялись в пределах 0.725–0.751. Новые данные о величине суточной продукции аппроксимировали с помощью кривой Гаусса по рассчитанным ранее коэффициентам (рис. 3). В итоге суммарная продукция икринок на I стадии развития, оцененная с учетом смертности, составила  $642.3 \times 10^{12}$  экз., что на 37.5% больше первоначальной величины.



**Рис. 3.** Расчетная динамика суточной продукции икринок минтая I стадии развития у западного побережья Камчатки в 2019 г. без учета (1) и с учетом (2) смертности.

Предположения о том, что общее количество выметанной икры, рассчитанное без учета ее убыли, занижается в 2–10 раз, значительно преувеличены (Лисовенко, 2000; Привалихин и др., 2001). Однако выявленное различие, на наш взгляд, весьма существенно, если оперировать терминами численности и биомассы нерестового запаса промыслового объекта. Продемонстрируем это на обобщенных расчетах. Зная среднюю плодовитость самок (153.9 тыс. икринок) и массу производителей в период икрометания (0.463 кг), а также приняв соотношение полов равным 1 : 1, можно рассчитать численность и биомассу нерестового запаса минтая в водах западного побережья Камчатки в 2019 г. Для двух вариантов оценок общего количества выметанной икры эти значения будут следующими: 6.1 млрд экз. или 2.8 млн т без учета убыли и 8.3 млрд экз. или 3.9 млн т, если смертность икринок учитывать.

Таким образом, при введении в расчеты поправки на смертность икры увеличение нерестового запаса минтая составило более 1 млн т. Представляется, что такой подход позволяет дать объективную оценку состояния его запасов по результатам ихтиопланктонных съемок.

#### 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.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках Концепции развития рыбного хозяйства Российской Федерации до 2020 г. (одобрена распоряжением Правительства Российской Федерации от 2 сентября 2003 г. № 1265-р) в соответствии с тематическим планом научно-исследовательских работ ФГБНУ «ТИНРО-Центр» на 2019 г.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают признательность И.А. Набережных и А.Ю. Шейбаку за помощь в камеральной обработке ихтиопланктонных проб и оперативных расчетах численности выметанной икры минтая на стандартных полигонах.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Антонов Н.П.* Биология и динамика численности восточнокамчатского минтая: Автореф. дис... канд. биол. наук. Владивосток: ТИНРО. 1991. 23 с.
- Антонов Н.П., Золотов О.Г.* Особенности размножения восточнокамчатского минтая // Популяционная структура, динамика численности и экология минтая. Владивосток: ТИНРО. 1987. С. 123–131.
- Балыкин П.А.* Изменчивость сроков нереста и смертность развивающейся икры у западноберингово-морского минтая (*Theragra chalcogramma (Pallas)*) // Исследования биологии и динамики численности промысловых рыб камчатского шельфа. Петропавловск-Камчатский: КоТИНРО. 1993. Вып. 2. С. 166–176.
- Балыкин П.А.* Некоторые особенности экологии размножения минтая *Theragra chalcogramma* // Вопр. ихтиологии. 1997. Т. 37. Вып. 2. С. 265–269.
- Бизиков В.А., Поляков А.В.* Географическая информационная система «КАРТМАСТЕР»: новые воз-

- возможности и перспективы для рыбохозяйственных исследований // Математическое моделирование и информационные технологии в исследованиях биоресурсов Мирового океана: Тез. докл. Материалов отраслевого семинара. Владивосток: ТИНРО-центр. 2004. С. 89–91.
- Буслов А.В., Сергеева Н.П. Эмбриональное развитие и ранний постэмбриогенез тресковых дальневосточных морей // Исследования водных биологических ресурсов Камчатки и северо-западной части Тихого океана: Сб. науч. тр. Камчат. НИИ рыб. хоз-ва и океаногр. 2013. Вып. 29. С. 5–69.
- Буслов А.В., Тепнин О.Б. Условия нереста и эмбриогенеза минтая *Theragra chalcogramma* (Gadidae) в глубоководных каньонах тихоокеанского побережья Камчатки // Вопр. ихтиологии. 2002. Т. 42. Вып. 5. С. 617–625.
- Буслов А.В., Тепнин О.Б., Дубинина А.Ю. Некоторые особенности экологии нереста и эмбриогенеза восточнокамчатского минтая // Изв. ТИНРО. 2004. Т. 138. С. 282–298.
- Волков А.Ф., Горбатенко К.М., Мерзляков А.Ю. Планктон, состояние кормовой базы и питание массовых рыб эпи- и мезопелагиали Охотского моря в зимне-весенний период // Изв. ТИНРО. 2003. Т. 133. С. 169–235.
- Горбатенко К.М., Овсянников Е.Е., Лаженцев А.Е., Шейбак А.Ю. Оценка выедания икры минтая нектоном и медузами в северной части Охотского моря в весенний период // Изв. ТИНРО. 2012. Т. 169. С. 12–20.
- Зайцев Г.Н. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. М.: Наука. 1984. 423 с.
- Кузнецов В.В., Котенев Б.Н., Кузнецова Е.Н. Проблемы оценки численности и допустимого изъятия североохотоморского минтая *Theragra chalcogramma* // Вопр. рыболовства. 2008. Т. 9. № 2 (34). С. 276–293.
- Лисовенко Л.А. Размножение рыб с прерывистым оогенезом и порционным нерестом на примере минтая западной Камчатки. М.: ВНИРО. 2000. 112 с.
- Привалихин А.М., Варкентин А.И., Норвилло Г.В. Некоторые методологические подходы к оценке выживаемости минтая *Theragra chalcogramma* (Pallas) западной Камчатки в 1996–1998 годах // Вопр. рыболовства. 2001. Приложение 1. С. 230–236.
- Расс Т.С., Казанова И.И. Методическое руководство по сбору икринок, личинок и мальков рыб. М.: Пищ. пром-ть. 1966. 42 с.
- Рикер У.Е. Методы оценки и интерпретации биологических показателей популяций рыб. М.: Пищ. пром-сть. 1979. 408 с.
- Фадеев Н.С. Нерестилища и сроки размножения минтая северной части Охотского моря // Популяционная структура, динамика численности и экология минтая. Владивосток: ТИНРО. 1987. С. 5–23.
- Фадеев Н.С. Методика оценки запасов минтая по численности икры и размерно-возрастному составу // Биол. моря. 1999. Т. 25. № 3. С. 246–249.
- Фадеев Н.С., Смирнов А.В. Оценка численности икры и производителей минтая в северной части Охотского моря // Биол. моря. 1987. № 4. С. 19–25.
- Шунтов В.П., Волков А.Ф., Темных О.С., Дуленова Е.П. Минтай в экосистемах дальневосточных морей. Владивосток: ТИНРО. 1993. 426 с.
- Brodeur R.D., Merati N. Predation on walleye pollock (*Theragra chalcogramma*) eggs in the western Gulf of Alaska: the roles of vertebrate and invertebrate predators // Mar. Biol. 1993. V. 117. P. 483–493.
- Brodeur R.D., Picquelle S.J., Blood D.M., Merati N. Walleye pollock eggs distribution and mortality in the western Gulf of Alaska // Fish. Oceanogr. 1996. V. 5. № s1. P. 92–111.
- Nakatani T., Maeda T. Thermal effect on the development of walleye pollock eggs and their upward speed to the surface // Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 1984. V. 50. P. 937–942.
- Picquelle S.J., Megrey B.A. A preliminary spawning biomass estimate of walleye pollock, *Theragra chalcogramma*, in the Shelikof Strait, Alaska, based on the annual egg production method // Bull. Mar. Sci. 1993. V. 53. P. 728–749.

## Egg Mortality in Walleye Pollock *Gadus chalcogrammus* Pallas, 1814 during Embryogenesis in Waters off the Western Kamchatka Coast

A. V. Buslov<sup>a</sup> and A. V. Smirnov<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Pacific Branch, Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography (TINRO), Vladivostok 690091, Russia

Five consecutive ichthyoplankton surveys were conducted during the spawning season of the walleye pollock *Gadus chalcogrammus*, in April and May 2019, at a spawning ground off the western coast of the Kamchatka Peninsula. Daily walleye pollock egg production was estimated for each survey based on the number of spawned eggs recorded. The total egg production and mortality rate during embryogenesis were calculated for the spawning season. The highest mortality rates were observed at egg developmental stages 1 and 3. The total loss amounted to 86.8% of the number of spawned eggs. The results obtained allow substantial improvement of quality of abundance estimates for the walleye pollock spawning stock in the Sea of Okhotsk.

**Keywords:** walleye pollock eggs, duration of developmental stages, embryogenesis, mortality and survival rates

УДК 550.47:504.054:582.272

## ДОЛГОВРЕМЕННЫЙ БИОМОНИТОРИНГ ЗАГРЯЗНЕНИЯ УССУРИЙСКОГО ЗАЛИВА ЯПОНСКОГО МОРЯ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ

© 2021 г. С. И. Коженкова<sup>1,\*</sup>, Н. К. Христофорова<sup>1,2</sup>, Е. Н. Чернова<sup>1,2</sup>, А. Д. Кобзарь<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Тихоокеанский институт географии ДВО РАН, Владивосток 690041, Россия

<sup>2</sup>Дальневосточный федеральный университет, Владивосток 690950, Россия

\*e-mail: svetlana@tigdvo.ru

Поступила в редакцию 02.07.2020 г.

После доработки 20.10.2020 г.

Принята к публикации 01.04.2021 г.

Изучено содержание Fe, Mn, Cu, Zn, Pb, Cd и Ni в бурых водорослях *Sargassum miyabei* Yendo и *S. pallidum* (Turner) C. Agardh, собранных в Уссурийском заливе Японского моря в 2001–2018 гг. Степень загрязнения разных участков залива тяжелыми металлами оценивали, сравнивая фактические концентрации элементов в водорослях с верхними пороговыми уровнями фоновых диапазонов элементов ( $C_{\text{порог}}$ ). В 2016–2018 гг. наибольшая кратность превышения  $C_{\text{порог}}$  (или коэффициент опасности загрязнения водорослей металлами,  $K_O$ ) для Cd и Ni достигала 1.7, Zn – 2.0, Fe – 3.1, Mn – 7.2, Pb – 12.3 и Cu – 15.0. Концентрации большинства элементов были максимальными в саргассумах, собранных вблизи полигона твердых бытовых отходов г. Владивостока, действовавшего в 1967–2010 гг. В 2016–2018 гг. основными загрязняющими веществами здесь были Pb и Cu, сопутствующими – Zn, Mn, Fe и Ni.

**Ключевые слова:** загрязнение, тяжелые металлы, бурые водоросли, долговременный мониторинг, полигон твердых бытовых отходов, Японское море

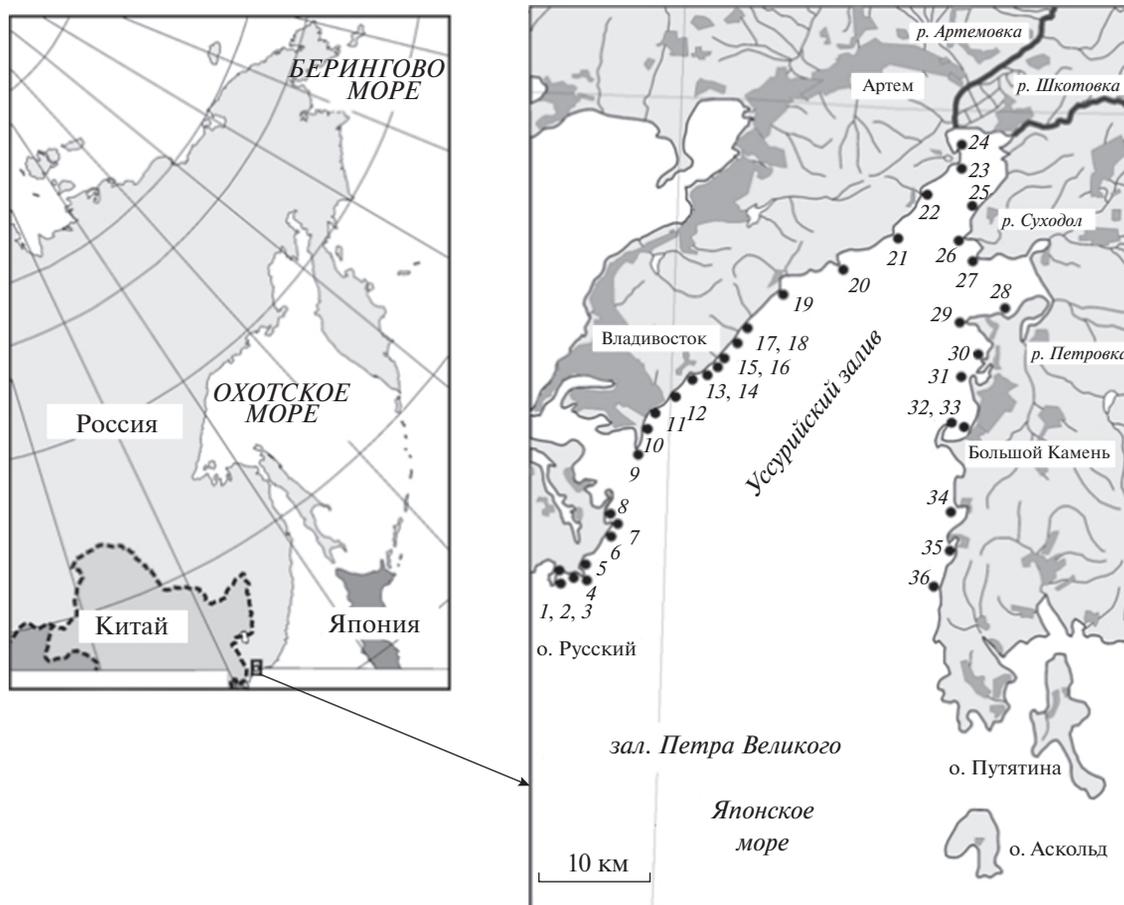
**DOI:** 10.31857/S0134347521040094

Оценка степени загрязнения морской среды тяжелыми металлами с использованием макроводорослей является широко распространенным методом, впервые использованным европейскими учеными в начале 1970-х гг. (Bryan, Hummerstone, 1973). К настоящему времени накоплены обширные сведения о концентрациях металлов в макроводорослях, произрастающих от арктических до антарктических морей (Облучинская и др., 2013; Astorga-España et al., 2015; Pan et al., 2018, и др.), рассчитаны диапазоны элементов в макрофитах разных таксономических групп (Sánchez-Quiles et al., 2017), разработана методика сбора, хранения и подготовки образцов водорослей к химическому анализу с целью минимизации влияния предварительных этапов на результаты определения (García-Seoane et al., 2018). Несмотря на длительность применения водорослей в качестве индикаторов загрязнения морских прибрежных вод тяжелыми металлами (более 40 лет), работ по долговременному мониторингу немного (Коженкова и др., 2000; Шулькин и др., 2003; Chalkley et al., 2019; Rainbow, 2020).

Настоящая работа посвящена оценке пространственного и временного изменения загрязнения Уссурийского залива тяжелыми металлами по их содержанию в водорослях. Актуальность исследования связана с тем, что во второй половине XX в. здесь сформировалась локальная зона высокого загрязнения, однако несколько лет назад были реализованы природоохранные мероприятия, направленные на улучшение экологической ситуации. В то же время происходило постепенное увеличение антропогенной нагрузки на побережье залива, обусловленное строительством новых жилых массивов, рекреационных объектов, портов и т.д., что также отразилось на химико-экологическом состоянии морской среды.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Бурые водоросли *Sargassum miyabei* и *S. pallidum* собирали на глубине 0.5–1.5 м в разных участках залива в июле с 2001 по 2018 г. Пространственное изменение загрязнения прибрежных вод тяжелыми металлами оценивали на основе данных за 2016–2018 гг. Всего обследовано



**Рис. 1.** Станции отбора проб бурых водорослей в Уссурийском заливе: о-в Русский (1 – мыс Тобизина; 2 – б. Карпинского; 3 – б. Чернышева; 4 – мыс Вятлина; 5 – б. Багдановича; 6 – мыс Ахлестышева, основание; 7 – мыс Ахлестышева, оконечность; 8 – б. Ахлестышева, северная часть); западное побережье залива (9 – мыс Басаргина; 10 – б. Соболев; 11 – б. Сухопутная; 12 – б. Промежуточная; 13 – б. Горностай; 14 – б. Кетовая; 15 – район пос. Рыбачий; 16 – район свалки ТБО “Горностай”; 17 – б. Десантная; 18 – район турбаз; 19 – б. Лазурная, мыс Зеленый; 20 – мыс Энгельма; 21 – мыс Вилкова; вершина залива (б. Муравьиная, станции 22–25: 22 – мыс Муравьиный, 23 – мыс Геллера, 24 – мыс Черепаха, 25 – мыс Виноградного); 26 – мыс Теляковского; 27–29 – б. Суходол: 27 – мыс Азарьева, 28 – мыс Шевелева, 29 – мыс Красный; восточное побережье залива: 30 – к югу от мыса Максимова, 31 – мыс Палец, 32 – б. Андреева, 33 – мыс Седловидный, 34 – мыс Таранный, 35 – район пос. Подъяпольское, 36 – порт Вера.

36 станций (рис. 1), на некоторых из них удалось отобрать оба вида саргассумов.

Три–пять талломов, взятых целиком, отмывали водой с места сбора, очищали от эпибионтов и упаковывали в полиэтиленовые пакеты. В лаборатории водоросли сушили при температуре 85°C, измельчали и минерализовали азотной кислотой марки ОСЧ, согласно ГОСТ 26929–94. Металлы Fe, Mn, Cu, Zn, Pb, Cd и Ni в макрофитах определяли атомно-абсорбционным методом. Описательная статистика осуществлена в программе MS Excel. Результаты представлены в микрограммах на 1 г сухой массы.

Степень загрязнения разных участков залива оценивали путем сравнения концентраций тяжелых металлов в водорослях с верхними пороговы-

ми значениями фоновых диапазонов элементов ( $C_{\text{порог}}$ ), рассчитанными как медиана плюс двойная медиана абсолютных отклонений от медианы ( $Me + 2MAO$ ). Пороговые концентрации Pb пересчитаны с учетом новых данных согласно ранее опубликованной методике (Чернова, 2012; Чернова, Коженкова, 2016) и рекомендаций Рейманна с коллегами (Reimann et al., 2005). Кратность превышения концентрации металла в растении ( $C_i$ ) над  $C_{\text{порог}}$  обозначали как коэффициент опасности загрязнения водорослей металлами:  $K_0 = C_i / C_{\text{порог}}$  (Чернова, Коженкова, 2020). Достоверность различий данных в разные годы определяли с помощью критерия Манна–Уитни в программе PAST (версия 3.25).

**Таблица 1.** Статистические показатели концентраций тяжелых металлов (мкг/г сух. массы) в саргассумах из Уссурийского залива Японского моря (2016–2018 гг.)

Показатель	Fe	Mn	Cu	Zn	Pb	Cd	Ni
<i>Sargassum miyabei</i>							
Медиана	302	130	3.2	15.7	0.7	1.4	3.5
Мин.–макс.	66–1769	7–5063	2.6–70.4	9.5–47.6	0.2–11.1	0.8–3.6	2.5–7.2
<i>n</i>	20	20	20	20	15	20	19
<i>C</i> <sub>порог</sub>	746	714	4.7	23.9	1.8*	2.9	4.2
<i>Sargassum pallidum</i>							
Медиана	240	119	2.3	11.6	0.7	1.4	3.6
Мин.–макс.	32–2102	14–1705	0.8–12.8	7.8–37.3	0.1–18.5	0.9–2.9	1.6–6.2
<i>n</i>	38	31	38	38	32	38	38
<i>C</i> <sub>порог</sub>	672	455	3.9	23.8	1.5*	1.7	3.8
Общемировые данные для бурых водорослей (Sánchez-Quiles et al., 2017)							
Медиана	301	67	5.7	49	5.5	1.0	6.0
Q3 (третий квартиль)	848	135	13.0	120	11.0	2.15	11.4
Макс.	22725 ± 622	1228 ± 611	879 ± 1.27	3550	878	31.4 ± 8.27	60.6
<i>n</i>	490	485	677	789	610	690	390

Примечание. *n* – величина выборки; *C*<sub>порог</sub> – верхний пороговый уровень фонового диапазона микроэлементов в саргассумах из северо-западной части Японского моря (Чернова, Коженкова, 2016). \*Величины *C*<sub>порог</sub> для Pb пересчитаны на основе новых данных.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### Степень загрязнения тяжелыми металлами прибрежных вод залива

Вдоль скалистого восточного берега о-ва Русский отбирали *Sargassum pallidum* (*S. miyabei* там не встречался). Содержание Fe, Cu, Zn, Pb, Cd и Ni изменялось в следующих диапазонах: 32–476, 1.1–4.3, 9.4–13.1, 0.1–0.4, 1.5–2.1 и 3.2–6.2 мкг/г соответственно (табл. 1). Содержание Mn, определенное в растениях, собранных на станции 8, составляло 30.2 ± 24.7 мкг/г. Для всех металлов *K*<sub>0</sub> не превышал 1.6.

У восточного побережья залива *S. pallidum* был собран на станциях 31 и 33. Содержание металлов в водоросли не превышало пороговых уровней. Лишь у мыса Седловидный концентрация Cd составила 2.1 ± 0.2 мкг/г (*K*<sub>0</sub> = 1.2). *Sargassum miyabei* произрастал на станциях 34, 35 и 36 в более мориистой части залива. Концентрации металлов в этом виде водоросли были ниже *C*<sub>порог</sub>.

В вершине Уссурийского залива обследовано 6 станций. На всех из них был собран *S. pallidum*, а *S. miyabei* был найден лишь на четырех станциях. В водорослях из б. Муравьиная обнаружено максимальное для залива содержание железа: в 2018 г. в *S. pallidum*, собранном у мыса Муравьиный (станция 22), – 2102 ± 38 мкг/г, *K*<sub>0</sub> = 3.1; в *S. miyabei*, собранном у мыса Черепаха (станция 24) в 2017 г., – 1866 ± 479 мкг/г, *K*<sub>0</sub> = 2.5. На остальных станциях содержание Fe в данных видах изменя-

лось от 158–626 до 79–160 мкг/г соответственно. Максимальная концентрация Mn, как и Fe, отмечена в *S. miyabei* со станции 24 – 5063 ± 450 мкг/г, что в 7.2 раза выше регионального порога. На трех других станциях содержание Mn в этой водоросли изменялось от 12 до 339 мкг/г. В *S. pallidum* содержание Mn варьировало от 119 до 198 мкг/г.

Концентрации Cu, Zn, Pb, Cd и Ni в *S. miyabei* составляли соответственно 2.6–3.9, 10.9–21.7, 0.3–0.7, 1.6–3.6 и 2.7–5.5 мкг/г. В *S. pallidum* содержание Cu изменялось от 2.0 до 5.9 мкг/г, Zn – от 9.2 до 16.0 мкг/г, Pb – от 0.6 до 1.1 мкг/г, Cd – от 1.3 до 2.9 мкг/г и Ni – от 2.0 до 5.2 мкг/г. На некоторых станциях концентрации Cu, Cd и Ni в водорослях превышали *C*<sub>порог</sub>.

В саргассумах, собранных у западного побережья залива, концентрации металлов (мкг/г) были следующими: в *S. miyabei* – Fe от 145 до 1077, Mn от 26 до 1305, Cu от 2.6 до 70.4, Zn от 9.6 до 47.6, Pb от 0.2 до 11.1, Cd от 0.8 до 2.5 и Ni от 2.5 до 7.2; в *S. pallidum* – Fe от 98 до 856, Mn от 14 до 1705, Cu от 0.8 до 12.8, Zn от 7.8 до 37.3, Pb от 0.3 до 18.5, Cd от 0.9 до 2.6 и Ni от 1.6 до 6.2. В обоих видах саргассумов, собранных на акватории между станциями 13 и 18, содержание Cu и Pb значительно превышало пороговые значения (рис. 2); концентрации Fe, Mn, Zn и Ni лишь немного отличались от пороговых (*K*<sub>0</sub> ≤ 2). Максимальные концентрации большинства элементов отмечены в водорослях со станции 17.

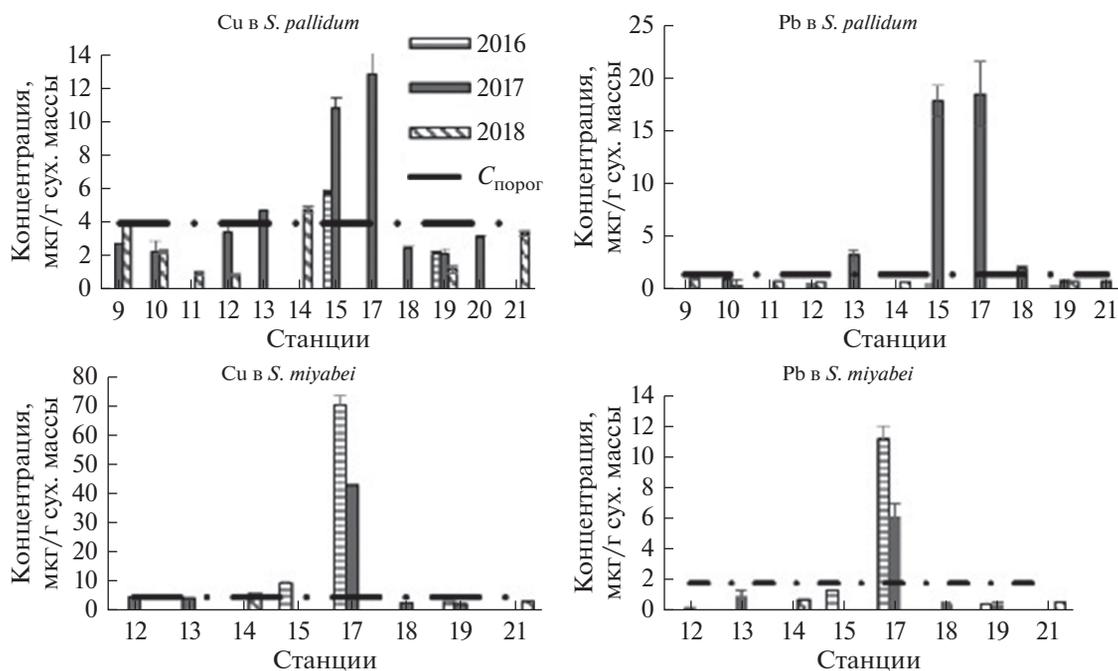


Рис. 2. Концентрации меди (Cu) и свинца (Pb) в *Sargassum miyabei* и *S. pallidum* (мкг/г сух. массы) с западного побережья Уссурийского залива в 2016–2018 гг. Столбики – средние значения, линии – стандартное отклонение.

По заливу в целом кратность превышения пороговых концентраций элементов в водорослях существенно различалась. Для Cd и Ni максимальное значение  $K_0$  составило 1.7, для Zn – 2.0, Fe – 3.1, Mn – 7.2, Pb – 12.3 и Cu – 15.0. В растениях с западного побережья зарегистрированы наибольшие концентрации Cu, Pb и Zn, из вершины залива – высокое содержание Mn в *S. miyabei* и Fe в обоих видах саргассума. Содержание Cd и Ni в водорослях было менее изменчиво, чем других металлов.

#### Межгодовые изменения концентраций металлов в саргассумах

Отбор саргассумов в течение нескольких лет вдоль западного побережья Уссурийского залива позволяет проследить, как изменилась экологическая ситуация после реализации в 2010–2018 гг. природоохранных мероприятий. Максимальные концентрации Cu и Pb обнаружены в *S. pallidum* со станции 17 в 2001 г. и со станции 16 в 2002 г. (табл. 2). Коэффициент загрязнения водорослей Cu достигал 40, а Pb – 74; загрязнение Zn было не столь высоким ( $K_0 \sim 5.5$ ). На станции 13 в 2004 и 2017 гг. концентрация Cu в *S. pallidum* была сопоставима с  $C_{\text{порог}}$ . В *S. miyabei* она составляла  $2.7C_{\text{порог}}$  в 2010 г. и снизилась в 2.7 раза к 2017 г. Содержание Zn в 2004 и 2017 гг. в целом соответствовало  $C_{\text{порог}}$ . Концентрация Pb в 2004 г. в обоих видах саргассума превышала  $C_{\text{порог}}$  в 1.3–2.5 раза, в 2017 г. в *S. pallidum* она варьировала в широком

диапазоне, а в *S. miyabei* соответствовала  $C_{\text{порог}}$ . На станции 14 с 2004 по 2018 г. отмечено существенное снижение концентрации металлов в *S. pallidum*: Cu – с 22 до 4.7 мкг/г, Zn – с 35 до 15 мкг/г и Pb – с 37 до 0.7 мкг/г. В *S. miyabei* со станции 15 до и после рекультивации полигона твердых бытовых отходов (ТБО) концентрация Cu увеличилась с  $C_{\text{порог}}$  до  $2C_{\text{порог}}$ , а концентрация Zn снизилась с  $2C_{\text{порог}}$  до  $C_{\text{порог}}$ . В *S. pallidum* значительная межгодовая изменчивость содержания металлов наблюдалась и после рекультивации полигона: с 2016 до 2017 г. произошло двукратное повышение концентраций Cu, Zn и Pb.

На южном мысу б. Десантная (станция 17) с 2001 по 2017 г. в *S. pallidum* концентрация Pb снизилась с  $57C_{\text{порог}}$  до  $13C_{\text{порог}}$ , Cu – с  $35C_{\text{порог}}$  до  $3C_{\text{порог}}$ , Zn – с  $6C_{\text{порог}}$  до  $C_{\text{порог}}$ . В *S. miyabei* в 2017 г. по сравнению с 2016 г. содержание Cu и Pb снизилось в 1.5 раза, а содержание Zn не изменилось. На северном мысу этой бухты в 2017 г. по сравнению с 2010 г. содержание Cu и Zn в водоросли (табл. 2). В целом содержание металлов в макрофитах у южного мыса б. Десантная было в 2–3 раза выше, чем у северного мыса.

В 2016 г. в растениях со станции 18 концентрации металлов были ниже, чем в 2002 г. Так, в *S. pallidum* содержание Cu уменьшилось с 14.6 до 2.6 мкг/г, Zn – с 25.7 до 8.8 мкг/г, Pb – с 8.1 до 1.9 мкг/г. В саргассумах со станции 19 содержание Cu, Zn и Pb в 2016 и 2017 гг. изменилось незначительно (табл. 2).

Таблица 2. Межгодовая динамика концентраций Cu, Zn и Pb (мкг/г сух. массы) в бурых водорослях вдоль западного побережья Уссурийского залива

№ станции	Район	<i>Sargassum pallidum</i>				<i>Sargassum miyabei</i>		
		2001/2002 <sup>a</sup> /2004 <sup>b</sup>	2014/2016 <sup>c</sup>	2017	2018	2002/2004 <sup>d</sup> /2010 <sup>e</sup>	2016	2017
<b>Cu</b>								
13	Б. Горностай	4.9 ± 0.9 <sup>b</sup>	—	4.6 ± 0.0	—	12.9 ± 1.8 <sup>d</sup>	—	4.6 ± 0.3 <sup>1</sup>
14	Б. Кетовая	22 ± 3.9 <sup>a</sup>	—	—	4.7 ± 0.2	—	—	—
15	Район пос. Рыбачий	—	5.7 ± 0.1 <sup>c</sup>	10.8 ± 0.7 <sup>1</sup>	—	5.0 <sup>e</sup>	9.6 ± 0.4	—
16	Район свалки ТБО “Горностай”	154 ± 32 <sup>a</sup>	—	—	—	—	—	—
17	Б. Десантная, юг	137 ± 34	—	12.8 ± 1.9 <sup>1</sup>	—	—	70.4 ± 3.4	43.1 ± 6.4 <sup>1</sup>
18	Б. Десантная, север	—	—	—	—	4.5 <sup>e</sup>	—	14.5 ± 0.1 <sup>1</sup>
18	Район турбаз	14.6 ± 1.3 <sup>a</sup>	—	2.6 ± 0.4 <sup>1</sup>	—	18.1 ± 2.1	—	2.8 ± 0.1 <sup>1</sup>
19	Б. Лазурная, мыс Зеленый	—	2.1 ± 0.1 <sup>c</sup>	2.1 ± 0.3	1.1 ± 0.2	—	3.1 ± 0.2	2.6 ± 0.2
22	Б. Муравьиная, мыс Муравьиный	—	2.0	—	5.9 ± 0.2	3.0 <sup>e</sup>	—	—
<b>Zn</b>								
13	Б. Горностай	20.6 ± 1.8 <sup>b</sup>	—	14.2 ± 2.6	—	24.1 ± 3.5 <sup>d</sup>	—	18.1 ± 3.7
14	Б. Кетовая	35.2 ± 5.4 <sup>a</sup>	—	—	15.4 ± 0.1 <sup>1</sup>	—	—	—
15	Район пос. Рыбачий	—	12.6 ± 0.1 <sup>c</sup>	37.3 ± 3.9	—	36.0 <sup>e</sup>	16.6 ± 0.2	—
16	Район свалки ТБО “Горностай”	125 ± 20 <sup>a</sup>	—	—	—	—	—	—
17	Б. Десантная, юг	134 ± 87	—	28.2 ± 3.8 <sup>1</sup>	—	—	46.3 ± 4.8	47.5 ± 7.4
18	Б. Десантная, север	—	—	—	—	20.0 <sup>e</sup>	—	29.4 ± 1.3
18	Район турбаз	25.7 ± 0.4 <sup>a</sup>	—	8.8 ± 2.1 <sup>1</sup>	—	25.6 ± 3.3	—	12.5 ± 0.8 <sup>1</sup>
19	Б. Лазурная, мыс Зеленый	—	7.0 ± 0.1 <sup>c</sup>	7.8 ± 1.2	9.3 ± 0.1	—	9.6 ± 0.4	11.5 ± 1.8
22	Б. Муравьиная, мыс Муравьиный	—	11.5	—	16 ± 0.3	24 <sup>e</sup>	—	—
<b>Pb</b>								
13	Б. Горностай	2.1 ± 0.5 <sup>b</sup>	—	2.3 ± 1.6	—	4.6 ± 1.4 <sup>d</sup>	—	1.0 ± 0.4 <sup>1</sup>
14	Б. Кетовая	37.0 ± 5.8 <sup>a</sup>	—	—	0.7 ± 0.0 <sup>1</sup>	—	—	—
15	Район пос. Рыбачий	—	0.6 ± 0.1 <sup>c</sup>	17.9 ± 1.5	—	—	1.3 ± 0.8	—
16	Район свалки ТБО “Горностай”	111 ± 28 <sup>a</sup>	—	—	—	—	—	—
17	Б. Десантная, юг	84.7 ± 17.8	—	18.5 ± 3.1 <sup>1</sup>	—	—	11.4 ± 1.7	6.1 ± 0.8 <sup>1</sup>
18	Район турбаз	8.1 ± 0.3	—	1.9 ± 0.3 <sup>1</sup>	—	8.4 ± 0.1	—	0.46 ± 0.0 <sup>1</sup>
19	Б. Лазурная, мыс Зеленый	—	0.5 ± 0.0 <sup>c</sup>	0.7 ± 0.3	0.8 ± 0.0	—	0.4 ± 0.01	0.4 ± 0.2
22	Б. Муравьиная, мыс Муравьиный	—	0.52	—	0.7 ± 0.0	—	—	—

Примечание. Прочерк – нет данных; ± – стандартное отклонение. <sup>1</sup>Значимые различия концентрации металлов в водорослях с одной станции разных лет отбора (критерий Манна–Уитни,  $p < 0.05$ ). Концентрации металлов в *Sargassum pallidum* в 2002<sup>a</sup>, 2004<sup>b</sup> и 2016<sup>c</sup> гг.; в *Sargassum miyabei* в 2004<sup>d</sup> и 2010<sup>e</sup> гг.

## ОБСУЖДЕНИЕ

*Источники загрязнения прибрежных вод в разных частях залива*

Основными путями поступления металлов в морскую среду являются речной сток и антропогенные источники, такие как сточные воды промышленных предприятий и жилых массивов, поверхностный смыв с урбанизированных территорий, сток от полигонов ТБО, золоотвалов и хвостохранилищ, коррозия объектов портовой инфраструктуры и затонувших судов, а также атмосферные осадки.

Бурые водоросли являются интегральными индикаторами загрязнения морской среды металлами (Христофорова, 1989; Rainbow, Phillips, 1993; Чернова, Коженкова, 2016; Pan et al., 2018; Кобзарь, Христофорова, 2019; Chalkley et al., 2019, и др.). Масштабы конкретных нарушений выявляются путем сравнения с незагрязненными участками (Scanes, Roach, 1999; Облучинская и др., 2013), выбор которых часто субъективен.

Другим распространенным методом определения уровня загрязнения среды с помощью организмов-индикаторов является сравнение с рассчитанными фоновыми концентрациями, в качестве которых используются средние арифметические или геометрические (Савенко, 2006), усеченные средние (Sánchez-Quiles et al., 2017) и медианные (Reimann et al., 2005; Лукашев, 2007; Sánchez-Quiles et al., 2017). Санитарно-гигиенические ПДК вредных веществ Hg, Pb, Cd и As, применяемые в России и за рубежом для определения качества морепродуктов, мало пригодны для экологических оценок состояния природных систем, так как не гарантируют безопасность жизнедеятельности гидробионтов на всех стадиях их развития от споры или личинки до половозрелого организма. Необходимость объективного критерия для экологической оценки среды стимулировала работу по расчету пороговых концентраций металлов в гидробионтах (Cantillo, 1998; Чернова, Коженкова, 2016; Zalewska, Danowska, 2017).

Основным источником поступления соединений Fe и Mn в Уссурийский залив является речной сток. Поэтому их наибольшие концентрации характерны для водорослей вершины залива, куда впадают четыре реки. В мористой части залива содержание Fe и Mn водорослях было низким.

Существенным антропогенным источником загрязнения прибрежных вод залива является поверхностный сток с территории бывшей свалки г. Владивостока и золоотвалов ТЭЦ-2 (станции 13–17). Высокий уровень загрязнения металлами компонентов экосистемы вокруг свалки отмечали и ранее (Шулькин, 2004; Кавун, Шулькин, 2005; Симоконь, 2009). Согласно данным биомониторинга, летом 2016–2018 гг. основными компонентами здесь были Cu и Pb (рис. 2), а сопут-

ствующими Zn, Mn, Fe и Ni. В летний период дренажные воды от района свалки распространяются преимущественно на север (Симоконь, 2009) в связи с преобладанием ветра южного направления. Поэтому максимальные концентрации металлов наблюдаются как в районе свалки, так и далее до б. Десантная, расположенной на 2 км севернее (станции 16–17). Однако при северном и западном ветрах они могут переноситься на юг и восток, загрязняя побережье к югу от полигона (станция 15). Дренажные воды золоотвалов ТЭЦ-2, попадающие в бухты Промежуточная и Горноста́й (станции 12–13), обуславливают повышение в водорослях концентраций как Cu и Pb (рис. 2), так Fe и Mn. В целом высокое загрязнение морских вод от наземных источников в юго-западной части п-ва Муравьев-Амурский такими токсичными для гидробионтов металлами, как Cu и Pb, имеет локальный характер, что подтверждает химический анализ донных осадков и двустворчатых моллюсков (Шулькин, 2004; Кавун, Шулькин, 2005). Концентрации металлов в водорослях вдоль северной части полуострова – в зоне рекреации – не превышают пороговых величин.

Сравнение наших результатов с данными других авторов (Mesmar, 1988; Sánchez-Rodríguez et al., 2001; Al-Masri et al., 2003; Pan et al., 2018; Sun et al., 2019, и др.) показало, что концентрация Mn в *S. miyabei* из российских вод Японского моря максимальна по сравнению с таковой в водорослях рода *Sargassum* из других районов Мирового океана (табл. 1). В макрофитах из вершины Уссурийского залива наибольшее содержание Mn составило  $5063 \pm 450$  мкг/г (станция 24, 2017 г.), что в 4 раза выше максимальной концентрации марганца в бурых водорослях, указанной Санчесом с соавторами (Sánchez-Quiles и др., 2017). Самое высокое содержание Mn определено в *S. miyabei* из б. Абрек в зал. Стрелок Японского моря – 5863 мкг/г (Чернова, Коженкова, 2020). В других заливах российского побережья Японского моря концентрация Mn в *S. miyabei* выше 500 мкг/г была характерна для эстуариев, портовых зон и районов дампинга грунтов (Чернова и др., 2002; Чернова, Коженкова, 2020). Таким образом, значимыми путями поступления тяжелых металлов в прибрежные воды Уссурийского залива являются речной сток (в вершине залива), а также поверхностный сток с полигона ТБО и золоотвалов ТЭЦ-2 на западном побережье.

*Долговременный мониторинг загрязнения прибрежных вод западной части Уссурийского залива тяжелыми металлами*

Начиная с 1967 г., основным источником загрязнения прибрежных вод западного побережья Уссурийского залива являлся полигон ТБО. В 2010–2012 гг. он был рекультивирован. Покры-

тие полигона глиняным саркофагом привело к усилению процессов газообразования. Несмотря на установку газодренажных скважин, газ выходил по трещинам. В период дождей из-под полигона в море выносятся растворенные соединения металлов (Яцук и др., 2012). В прибрежной зоне вблизи полигона сформировалась зона с высокими концентрациями металлов в компонентах экосистемы (Шулькин, 2004). В бурых водорослях, собранных в 2001–2002 гг. (станции 16–17), концентрации Zn, Cu и Pb превышали пороговые уровни в 5,6, 40 и 74 раза соответственно. После рекультивации полигона поступление поллютантов в залив уменьшилось, соответственно, снизилось содержание металлов в саргассумах (табл. 2).

Станции 13–15 располагались южнее полигона ТБО, однако в летний период распространение загрязненных дренажных вод на юг нехарактерно; воды переносятся преимущественно на север (Симоконь, 2009). Трех- и полторакартное снижение концентраций Cu и Zn в водорослях из б. Горностаи (станция 13) с 2001–2010 гг. до 2017 г., по-видимому, связано с варьированием объема поверхностного стока от золоотвалов ТЭЦ-2. В 2010–2017 гг. произошел постепенный переход электростанции на природный газ вместо угля; с 2011 г. золоотвалы ТЭЦ стали рекультивировать. Это привело к снижению объемов поступления металлов в прибрежную среду (табл. 2).

Б. Десантная (станция 17) имеет подковообразную форму и “улавливает” направленное на север вдольбереговое течение, собирающее дренажные воды свалки. На южном мысу этой бухты в 2 км к северу от полигона очень высокое загрязнение *S. pallidum* медью и свинцом наблюдалось в 2001 г. (пороговые значения были превышены в 35 и 56 раз соответственно), к 2017 г. концентрации этих металлов снизились, превысив  $C_{\text{порог}}$  соответственно в 3 раза и 12 раз. Содержание Zn за это время уменьшилось в 5 раз (табл. 2). В водорослях с северного мыса бухты, расположенного на удалении 700 м от южного, концентрации Cu и Zn в 2017 г. были в 3 и 1,6 раза ниже, чем в водорослях с южного мыса. Как показано Чапли с коллегами (Chalkley et al., 2019), концентрации металлов в *Fucus vesiculosus* вблизи устья реки, выносящей шахтные воды в море, очень быстро снижаются, и уже на удалении 100 м от источника загрязнения их значения не отличаются от таковых в растениях на станциях, расположенных в 1600–2000 м от устья. Очевидно, наблюдаемое различие концентраций металлов в саргассумах с южного и северного мысов б. Десантная – это обычное явление.

В двух километрах на север от б. Десантная начинается рекреационная зона – узкая полоса пляжей, где располагаются многочисленные базы отдыха. Если в 2002 г. на станции 18 концентра-

ция Cu в водорослях превышала пороговую в 3 раза, Pb – в 5 раз, а содержание Zn соответствовало фону, то в 2017 г. концентрации Cu и Zn не превышали пороговых значений, а содержание Pb было выше в 1,3 раза. По-видимому, это также связано с уменьшением загрязнения морской среды от полигона ТБО и с сокращением переноса поллютантов в северном направлении. На станции 19 (б. Лазурная, мыс Зеленый) содержание Cu и Zn в разные годы изменялось незначительно и не превышало  $C_{\text{порог}}$  (табл. 2).

После рекультивации полигона ТБО и золоотвалов концентрация металлов, поступающих в морскую среду с дренажными водами, снизилась, однако эти воды поступают в залив до сих пор, в частности, из-за того, что в куполе полигона образовались трещины. Очевидно, за счет разбавления уменьшился разнос загрязненных прибрежных вод к северу и югу от полигона: до его рекультивации загрязнение Cu и Pb наблюдалось от б. Горностаи (станция 13) до района турбаз (станция 18), загрязнение Zn – от б. Кетовая до северного мыса б. Десантная. После рекультивации загрязнение металлами прибрежной зоны локализовалось на участке пос. Рыбачий – б. Десантная (станции 15–17).

Межгодовая динамика содержания тяжелых металлов в макрофитах обусловлена, очевидно, не только объемами поступления загрязнения, но и гидрометеорологическими условиями конкретного года. Так, в 2017 г. по сравнению с 2016 г. в саргассумах со станции 15 к югу от полигона ТБО концентрация меди и свинца увеличилась, тогда как в водорослях со станции 17 к северу от полигона, наоборот, было отмечено снижение их содержания (табл. 2). Вероятно, этому способствовали другой ветровой режим и количество атмосферных осадков до начала сбора проб водорослей. В июле 2017 г. ливневые дожди прошли накануне отбора водорослей, что при пониженном уровне осадков в предшествующий период, очевидно, вызвало активное вымывание подвижных форм металлов дренажными водами, их перенос вдоль берега и накопление организмами. Так, экспериментально было установлено (Kumar et al., 2007), что накопление металлов живыми водорослями на два порядка величин из загрязненной среды происходит в течение 1,5–5 сут. Южному переносу загрязнения способствовал ветровой режим: в 2017 г. вклад северных, западных и северо-западных ветров за 10 дней до отбора проб составлял 18% против 5,6% в аналогичный период 2016 г. (Архив погоды). Повышенная повторяемость ветров неприоритетных для лета направлений, очевидно, способствовала разному дренажных вод от полигона в восточном и южном направлениях. В результате этого загрязнение водорослей металлами происходило не только севернее, но и южнее полигона.

Таким образом, большая часть Уссурийского залива Японского моря слабо загрязнена тяжелыми металлами. У его западного побережья находится локальная зона высокого загрязнения, сформированная в результате поверхностного смыва поллютантов с полигона ТБО г. Владивостока и золоотвалов ТЭЦ. Из исследованных элементов по данным за 2016–2018 гг. основными загрязняющими веществами были Pb и Cu, а сопутствующими Fe, Mn, Zn и Ni. В водорослях из вершины залива выявлены высокие концентрации Fe и Mn, что обусловлено речным стоком. Проведение природоохранных мероприятий, в том числе рекультивация полигона ТБО г. Владивостока и золоотвалов ТЭЦ-2, способствовало уменьшению поступления поллютантов в прибрежную зону западной части залива. Как следствие, концентрации металлов в водорослях снизились. Планируемое в ближайшие годы строительство новых портов и верфей, увеличение числа хозяйств марикультуры и очевидное нарастание рекреационной нагрузки могут стать причинами дополнительного поступления поллютантов в морскую среду.

#### 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

Результаты исследований получены в рамках госзадания Минобрнауки РФ (№ АААА-А16-116111610032-5).

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность сотрудникам Тихоокеанского института географии ДВО РАН А.М. Плотниковой и Г.А. Власовой за помощь в подготовке и проведении аналитических работ.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Архив погоды [Электронный ресурс]. Режим доступа: [https://gr5.ru/Архив\\_погоды\\_во\\_Владивостоке;свободный](https://gr5.ru/Архив_погоды_во_Владивостоке;свободный).

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

Кобзарь А.Д., Христофорова Н.К. Мониторинг загрязнения бухты Рудной (Японское море) по содержа-

нию тяжелых металлов в бурых водорослях // Биол. моря. 2019. Т. 45. № 2. С. 133–140.

Коженкова С.И., Христофорова Н.К., Чернова Е.Н. Долговременный мониторинг загрязнения морских вод Северного Приморья тяжелыми металлами с помощью бурых водорослей // Экология. 2000. № 3. С. 233–237.

Лукашев Д.В. Метод расчета фоновых концентраций тяжелых металлов в мягких тканях двусторчатых моллюсков для оценки загрязнения р. Днепр // Биол. внутренних вод. 2007. № 4. С. 97–106.

Облучинская Е.Д., Алешина Е.Г., Матишов Д.Г. Сравнительная оценка загрязнения металлами губ и заливов Мурмана по индексу MPI (Metal Pollution Index) // Докл. РАН. 2013. Т. 448. № 5. С. 588–591.

Савенко В.С. Химический состав взвешенных наносов рек мира. М.: ГЕОС. 2006. 175 с.

Симоконь М.В. Загрязнение донных отложений Уссурийского залива металлами и металлоидами // Уссурийский залив: современное состояние, ресурсы и перспективы природопользования: Материалы междунаро. научно-практ. конф. Владивосток: Изд-во Дальневост. ун-та. 2009. С. 35–38.

Христофорова Н.К. Биоиндикация и мониторинг загрязнения морских вод тяжелыми металлами. Л.: Наука. 1989. 192 с.

Чернова Е.Н. Определение фоновых концентраций металлов в бурой водоросли *Sargassum pallidum* из северо-западной части Японского моря // Биол. моря. 2012. Т. 38. № 3. С. 249–256.

Чернова Е.Н., Коженкова С.И. Определение пороговых концентраций металлов в водорослях-индикаторах прибрежных вод северо-восточной части Японского моря // Океанология. 2016. Т. 56. № 3. С. 393–402.

Чернова Е.Н., Коженкова С.И. Пространственная оценка загрязнения залива Петра Великого (Японское море) металлами с помощью бурой водоросли *Sargassum miyabei* // Океанология. 2020. Т. 60. № 1. С. 49–56.

Чернова Е.Н., Христофорова Н.К., Вышкварцев Д.И. Тяжелые металлы в морских травах и водорослях залива Посета Японского моря // Биол. моря. 2002. Т. 28. № 6. С. 425–430.

Шулькин В.М. Металлы в экосистемах морских мелководий. Владивосток: Дальнаука. 2004. 279 с.

Шулькин В.М., Коженкова С.И., Чернова Е.Н., Христофорова Н.К. Металлы в различных компонентах прибрежных морских экосистем Сихотэ-Алинского биосферного района // Геоэкология. Инженерная геология, гидрогеология, геокриология. 2003. № 4. С. 318–327.

Яцук А.В., Обжиров А.И., Гресов А.И., Коровицкая Е.В. Газогеохимия и геоэкология полигона твердых бытовых отходов г. Владивостока // Современное экологическое состояние залива Петра Великого Японского моря. Владивосток: Изд. дом ДВФУ. 2012. С. 426–437.

Al-Masri M.S., Mamish S., Budier Y. Radionuclides and trace metals in eastern Mediterranean Sea algae // J. Environ. Radioact. 2003. V. 67. P. 157–168.

- Astorga-España M.S., Rodríguez Galdón B., Rodríguez Rodríguez E.M., Díaz Romero C.* Mineral and trace element concentrations in seaweeds from the sub-Antarctic ecoregion of Magallanes (Chile) // *J. Food Compos. Anal.* 2015. V. 39. P. 69–76.
- Bryan G.W., Hummerstone L.G.* Brown seaweed as an indicator of heavy metals in estuaries in south-west England // *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 1973. V. 53. P. 705–720.
- Cantillo A.Y.* Comparison of results of Mussel Watch Programs of the United States and France with Worldwide Mussel Watch Studies // *Mar. Pollut. Bull.* 1998. V. 36. № 9. P. 712–717.
- Chalkley R., Child F., Al-Thaqafi K. et al.* Macroalgae as spatial and temporal bioindicators of coastal metal pollution following remediation and diversion of acid mine drainage // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2019. V. 182. Art. ID 109458.  
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109458>
- García-Seoane R., Fernández J.A., Villares R., Aboal J.R.* Use of macroalgae to biomonitor pollutants in coastal waters: Optimization of the methodology // *Ecol. Indic.* 2018. V. 84. P. 710–726.
- Kumar K.S., Ganesan K., Subba Rao P.V.* Phycoremediation of heavy metals by the three-color forms of *Kappaphycus alvarezii* // *J. Hazard. Mater.* 2007. V. 143. P. 590–592.  
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.09.061>
- Mesmar M.N.* Levels of zinc, cadmium and lead in some marine algae from Aquaba—Red Sea // *Acta Biol. Hung.* 1988. V. 39. Iss. 4. P. 345–349.
- Pan Y., Wernberg T., de Bettignies T. et al.* Screening of seaweeds in the East China Sea as potential bio-monitors of heavy metals // *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2018. V. 25. P. 16640–16651.
- Rainbow P.S.* Mining-contaminated estuaries of Cornwall — field research laboratories for trace metal ecotoxicology // *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 2020. V. 100. P. 195–210.
- Rainbow P.S., Phillips D.J.H.* Cosmopolitan biomonitors of trace metals // *Mar. Pollut. Bull.* 1993. V. 26. P. 593–601.
- Reimann C., Filzmoser P., Garrett R.G.* Background and threshold: critical comparison of methods of determination // *Sci. Total Environ.* 2005. V. 346. P. 1–16.
- Sánchez-Quiles D., Marbà N., Tovar-Sánchez A.* Trace metal accumulation in marine macrophytes: Hotspots of coastal contamination worldwide // *Sci. Total Environ.* 2017. V. 576. P. 520–527.
- Sánchez-Rodríguez I., Huerta-Díaz M.A., Choumiline E. et al.* Elemental concentrations in different species of seaweeds from Loreto Bay, Baja California Sur, Mexico: implications for the geochemical control of metals in algal tissue // *Environ. Pollut.* 2001. V. 114. № 2. P. 145–160.
- Scanes P.R., Roach A.C.* Determining natural ‘background’ concentrations of trace metals in oysters from New South Wales, Australia // *Environ. Pollut.* 1999. V. 105. P. 437–446.
- Sun X., Liu Z., Jiang Q., Yang Y.* Concentrations of various elements in seaweed and seawater from Shen’ao Bay, Nan’ao Island, Guangdong coast, China: Environmental monitoring and the bioremediation potential of the seaweed // *Sci. Total Environ.* 2019. V. 659. P. 632–639.
- Zalewska T., Danowska B.* Marine environment status assessment based on macrophytobenthic plants as bio-indicators of heavy metals pollution // *Mar. Pollut. Bull.* 2017. V. 118. P. 281–288.

## Long-Term Biomonitoring of Heavy Metal Pollution of Ussuri Bay, Sea of Japan

S. I. Kozhenkova<sup>a</sup>, N. K. Khristoforova<sup>a,b</sup>, E. N. Chernova<sup>a,b</sup>, and A. D. Kobzar<sup>b</sup>

<sup>a</sup>*Pacific Geographical Institute, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok 690041, Russia*

<sup>b</sup>*Far Eastern Federal University, Vladivostok 690950, Russia*

Concentrations of Fe, Mn, Cu, Zn, Pb, Cd, and Ni were studied in the brown algae *Sargassum miyabei* Yendo and *S. pallidum* (Turner) C. Agardh collected in Ussuri Bay, Sea of Japan, from 2001 to 2018. The degree of heavy metal pollution in different parts of the bay was assessed by comparing the actually measured concentrations of the metals in algae with the upper threshold values of their background ranges of concentrations ( $C_{UT}$ ). The coefficient of metal contamination risk for algae ( $K_R$ ) was calculated as the ratio of the metal concentration in algae to  $C_{UT}$ . In 2016–2018, the  $K_R$  values for Cd and Ni reached 1.7; for Zn, 2.0; for Fe, 3.1; for Mn, 7.2; for Pb, 12.3; and for Cu, 15.0. The maximum concentrations of most elements were recorded from the *Sargassum* algae collected off the Vladivostok municipal solid waste landfill operated in 1967–2010. In this part of the bay, the major pollutants in 2016–2018 were Pb and Cu; the accompanying pollutants were Zn, Mn, Fe, and Ni.

**Keywords:** pollution, heavy metals, brown algae, long-term monitoring, municipal solid waste landfill, Sea of Japan

УДК 582.26

## НОВЫЕ ДАННЫЕ О ФЛОРЕ ДИАТОМОВЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ (BACILLARIOPHYTA) В ЗАЛИВЕ КАРА-БОГАЗ-ГОЛ КАСПИЙСКОГО МОРЯ

© 2021 г. С. А. Булатов\*

Международный институт моделирования и прогнозирования развития морских и гипергалинных экосистем,  
Клип 141603, Россия

\*e-mail: mimgе\_rus@mail.ru

Поступила в редакцию 17.06.2020 г.

После доработки 27.01.2021 г.

Принята к публикации 01.04.2021 г.

В результате изучения диатомовых водорослей (Bacillariophyta), собранных в 2000–2001 гг. из планктона гипергалинного зал. Кара-Богаз-Гол, выявлено 13 видовых и внутривидовых таксонов, относящихся к родам *Campylodiscus*, *Cocconeis*, *Diploneis*, *Epithemia*, *Navicula*, *Nitzschia*, *Planothidium*, *Surirella* и *Tryblionella*. Водоросли обитали при солёности воды от 44 до 250‰. Для большинства таксонов расширены пределы солеустойчивости: 11 видов и разновидностей диатомовых водорослей впервые отнесены к галофилам. Створки видов *Planothidium* cf. *lanceolatum*, *Epithemia sorex* и *Nitzschia dissipata* из зал. Кара-Богаз-Гол имели меньше штрихов, чем в диагнозе (9–11, 10–12 и 25–35 штрихов в 10 мкм соответственно). Таксоны *P.* cf. *lanceolatum*, *Surirella brebissonii* var. *kuetzingii* и *Tryblionella compressa* впервые приведены для Каспийского моря.

**Ключевые слова:** диатомовые водоросли, Кара-Богаз-Гол, Каспийское море, Bacillariophyceae, солёность, галофилы

DOI: 10.31857/S0134347521040033

Кара-Богаз-Гол является солёным заливом морского происхождения, который расположен в восточной части Каспийского моря на территории Туркменистана. Длина залива по меридиану 165 км и параллели 154 км в координатах 40°35'–41°50' с.ш. и 50°40'–52°30' в.д. (Аковецкий, Богданов, 1988). Залив соединяется с Каспийским морем через прол. Кара-Богаз-Гол. Площадь поверхности зеркала залива составляет около 18000 км<sup>2</sup> с уровнем ниже уровня Каспийского моря на 28 м. В период проведения исследований солёность в разных частях залива изменялась от 40 до 270‰ (Булатов, 2020). Средняя глубина залива составляла 4.7 м с колебаниями от 2.2 до 6.2 м (Булатов, 2002).

Первые сведения о таксономическом составе диатомовых водорослей в зал. Кара-Богаз-Гол появились в 1970-х годах (Караева, 1972), впоследствии по результатам проведенных электронно-микроскопических исследований он был дополнен новыми таксонами (Караева, Гаджиева, 1975; Караева, Бухтиярова, 2010). Исследования диатомовых водорослей зал. Кара-Богаз-Гол были продолжены с конца 1990-х годов (Булатов, 2002) и касались в основном изучения продукционных показателей альгофлоры залива (Булатов, 2004). Недавние исследования диатомовых водорослей в зал. Кара-Богаз-Гол позволили описать

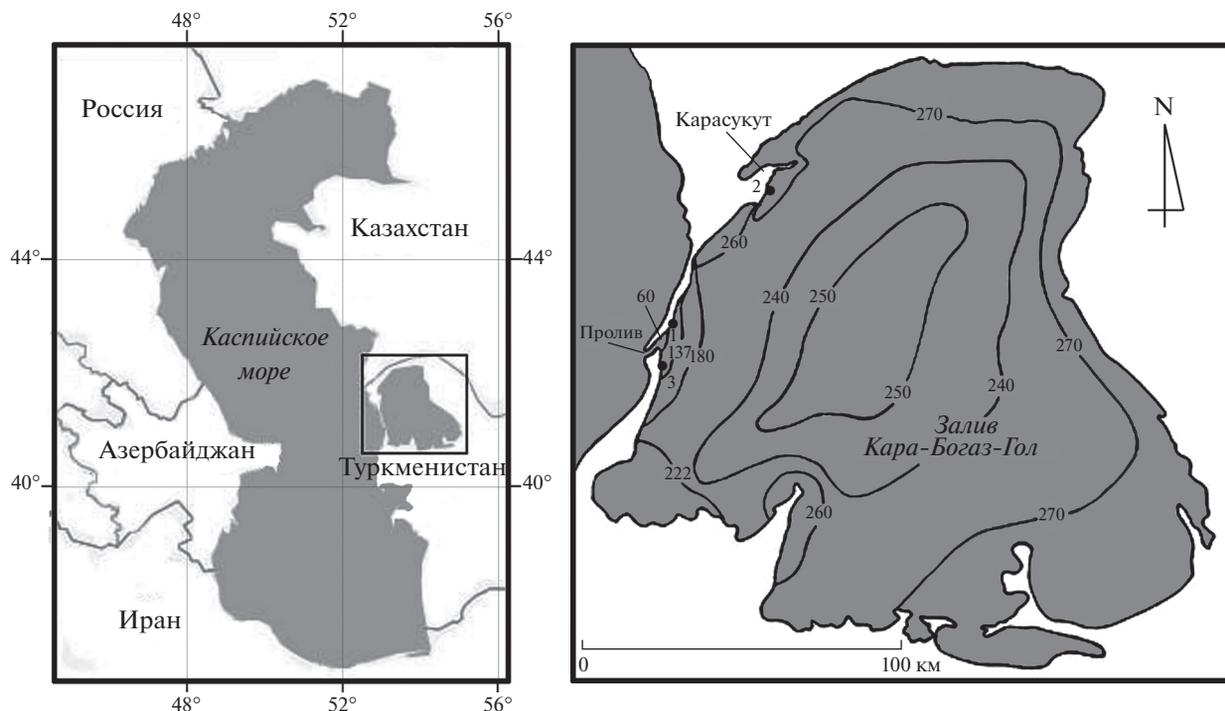
новый для науки вид диатомовых водорослей *Brachysira carabogazgolensis* Bulatov, 2020, обитающий при солёности 50‰ (Булатов, 2020).

Цели настоящей работы – подробное исследование видового состава диатомовой флоры зал. Кара-Богаз-Гол с использованием светового и сканирующего электронного микроскопов, а также изучение экологии составляющих ее видов.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материалом для исследования послужили 19 проб, собранных автором в феврале–июне и сентябре–октябре 2000 г., а также в мае–июне и августе–сентябре 2001 г. на трех прибрежных станциях западного побережья зал. Кара-Богаз-Гол: станция 1 – зона смешения вод, район с координатами 41°06'43" с.ш. – 52°54'32" в.д., глубина от 0.2 до 0.5 м; станция 2 – у косы Карасукут, координаты 41°32'51" с.ш. – 52°52'13" в.д., глубина от 0.2 до 0.7 м; станция 3 – южнее прол. Кара-Богаз-Гол, координаты 41°04'41" с.ш. – 52°55'42" в.д., глубина от 0.4 до 1.0 м (рис. 1).

Качественные пробы для изучения таксономического состава диатомовых водорослей в зал. Кара-Богаз-Гол отбирали в 50–300 м от берега планктонной сетью с диаметром входного отверстия 50 см и размером ячеек 40 мкм. Сборщик про-



**Рис. 1.** Карта-схема расположения зал. Кара-Богаз-Гол с указанием солености воды в 2000–2001 гг. (Булатов, Шакирова, 2005) и расположение станций отбора планктонных проб (указаны точки): станция 1 – зона смешения вод, станция 2 – коса Карасукут, станция 3 – акватория южнее прол. Кара-Богаз-Гол.

ходил 100 шагов и процеживал около 9.8 м<sup>3</sup> воды при отборе каждой пробы. Собранный материал сливали в пластиковые емкости объемом 1 л и фиксировали 1–2 мл 40% раствора формалина. Соленость воды в местах отбора проб измеряли рефрактометром АТАГО (Япония) с точностью измерения 2.0‰ при температуре от 10 до 30°C. Пробы концентрировали методом центрифугирования (Clark, 1956) на центрифуге ОПН-3 с частотой вращения 2 тыс. об/мин. От органического содержимого створки освобождали методом сжигания концентрированной серной кислотой (Забелина и др., 1951). Электронно-микроскопические исследования проводили с использованием сканирующего электронного микроскопа (СЭМ) JEOL JSM-25S (Япония) при рабочем расстоянии 10 мм и ускоряющем напряжении 15 кВ на базе Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН (пос. Борок, Ярославская область). Для СЭМ препараты напыляли золотом с помощью установки Eico IB-3 (Япония). Для съемки использовали фотопленку Kodak T-MAX 1114 100/120 PRO и Свема Foto 100. Для изучения створок с помощью светового микроскопа (СМ) готовили постоянные препараты (Забелина и др., 1951), в которых створки заключали в среду “плеврак” (показатель преломления 1.9). В работе использовали световой микроскоп P.Z.O. (Польша), оснащенный 100-кратным масляно-иммерсионным объективом с числовой апертурой 1.25.

Таксономическую принадлежность диатомовых водорослей определяли по: Забелина и др., 1951; Прошкина-Лавренко, 1955, 1963; Караева, 1972; Krammer, Lange-Bertalot, 1986, 1988, 1991; Генкал, 1992; Sims, 1996; Hofmann et al., 2011; Van de Vijver et al., 2013; Куликовский и др., 2016; Bertolli et al., 2020. Список диатомовых водорослей составлен по системе, предложенной Раундом с коллегами (Round et al., 1990), с учетом рекомендаций (см.: Guiry, Guiry, 2020). Вычисляли средние значения и стандартное отклонение (Лакин, 1980).

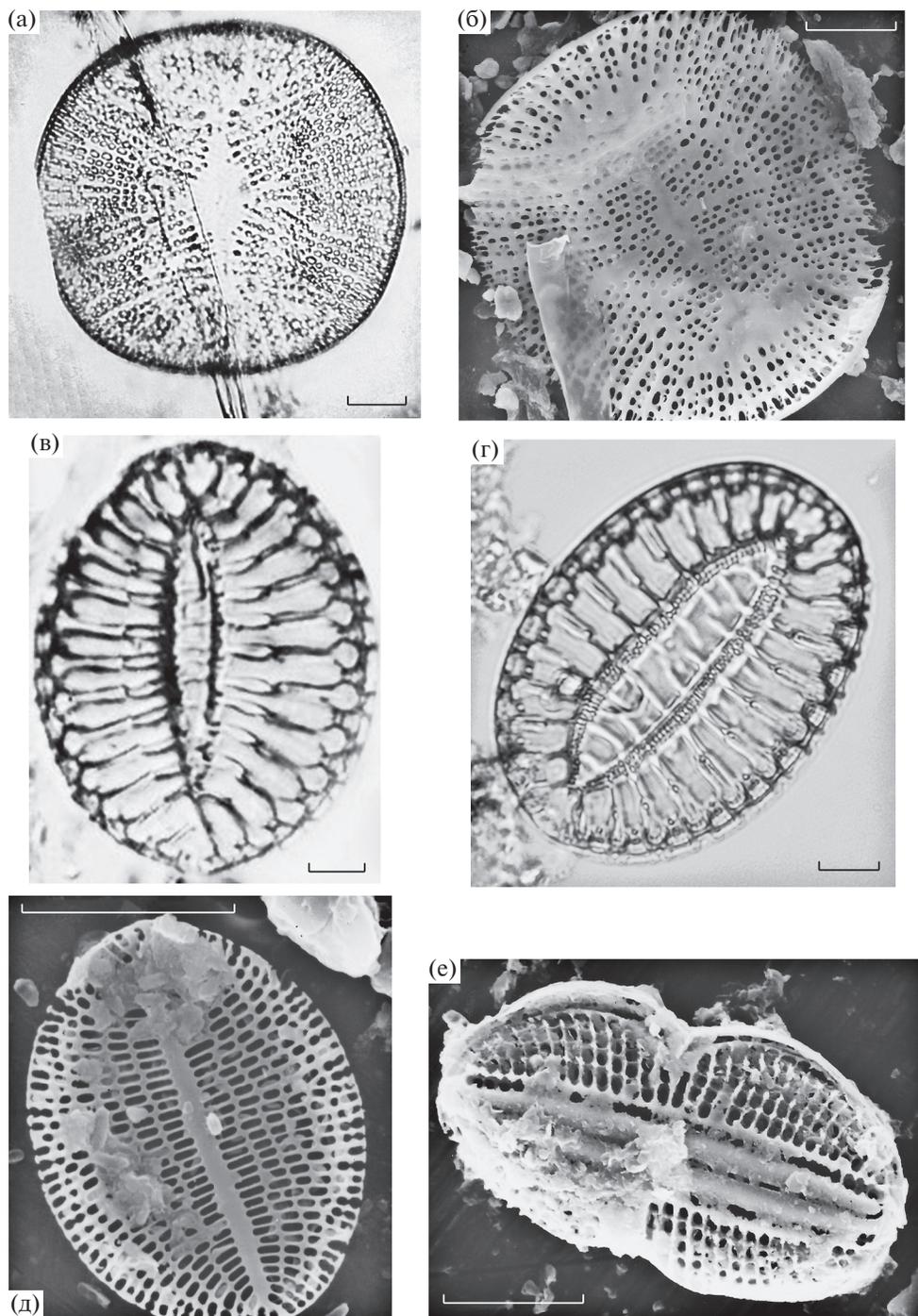
Исследованный материал, препараты и негативы микрофотографий хранятся в Лаборатории изучения гипергалинных экосистем Международного института моделирования и прогнозирования развития морских и гипергалинных экосистем (г. Клин, Московская область, Россия).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В планктоне зал. Кара-Богаз-Гол было определено 13 видовых и внутривидовых таксонов диатомовых водорослей, принадлежащих к классу Bacillariophyceae.

*Campylodiscus echeneis* Ehrenberg ex Kützing, 1844 (рис. 2а, 2б)

Караева, 1972: 224; Krammer, Lange-Bertalot, 1988: 213, pl. 175, fig. 1–2; pl. 176, fig. 1–3.

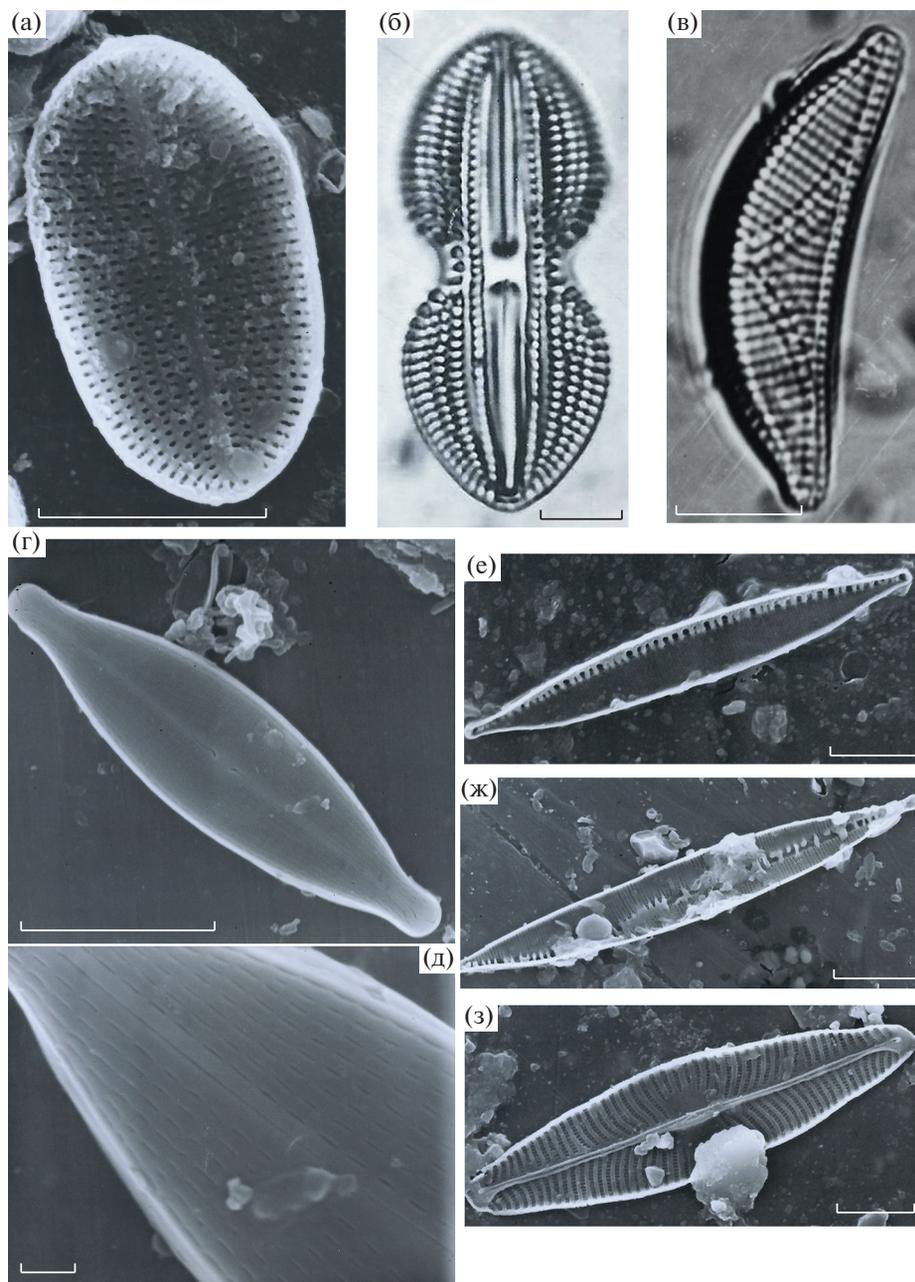


**Рис. 2.** Электронные (СЭМ) и световые (СМ) фотографии микроводорослей из зал. Кара-Богаз-Гол: а, б – *Campylodiscus echeneis*; в, г – *Campylodiscus neofastuosus*; д – *Cocconeis placentula* var. *euglypta*; е – *Diploneis didymus*. Масштаб: а – 30 мкм; в, г – 10 мкм (СМ); б – 30 мкм; д, е – 10 мкм (СЭМ).

Синонимы: *Coronia (Campylodiscus) echeneis* Ehrenberg, 1840: 206; *Campylodiscus cribrus* W. Smith, 1853: 29, pl. 7, fig. 55.

Описание. Створки почти круглые, диаметром 144.1–181.5 мкм, в среднем  $162.6 \pm 14.5$  мкм ( $n = 48$  створок); покрыты расположенными в сла-

борадальных рядах округлыми, округло-квадратными и эллиптическими гранулами, 2–3 гранулы в 10 мкм. Рядов гранул 1–3 в 10 мкм. Среднее поле ромбическое или ланцетное. Вид встречался в прибрежном планктоне зоны смешения вод (станция 1) и южнее прол. Кара-Богаз-Гол (станция 3) при солености 73.2–120.0‰.



**Рис. 3.** Электронные (СЭМ) и световые (СМ) фотографии микроводорослей из зал. Кара-Богаз-Гол: а – *Cocconeis lineata*; б – *Diploneis bombus*; в – *Epithemia sorex*; г, д – *Navicula gregaria* (г – вид со створки, д – вид структуры створки); е, ж – *Nitzschia dissipata* (вид со створки); з – *Navicula peregrina*. Масштаб: а, г, е, ж, з – 10 мкм и д – 1 мкм (СЭМ); б, в – 10 мкм (СМ).

*Campylodiscus neofastuosus* Ruck et Nakov,  
2016 (рис. 2в, 2г)

Синонимы: *Navicula fastuosa* Ehrenberg, 1840: 214; *Surirella fastuosa* (Ehrenberg) Ehrenberg, 1843: 388, pl. 1–4; Прошкина-Лавренко, 1955: 207, рис. 102, 1; табл. VIII, рис. 8; 1963: 203, табл. XVI, рис. 1–11; Караева, 1972: 224; Sims, 1996: 556, pl. 270, fig. 5; *Novilla fastuosa* (Ehrenberg) Cleve, 1868: 234, pl. 1–4; *Suriraya fastuosa* (Ehrenberg) Schaaerschmidt, 1880: 161.

Описание. Створки широкоэллиптические, почти округло-четырёхугольные, длиной 72.5–85.6 мкм, в среднем  $78.9 \pm 4.7$  мкм, и шириной 55.8–64.6 мкм, в среднем  $59.9 \pm 3.0$  мкм ( $n = 52$  створки). Ребра грубые, радиальные, 1.5–2.0 в 10 мкм. Поперечных межреберных штрихов по краю створки 10–11 в 10 мкм. Осевое поле ланцетное, штрихов 10 в 10 мкм. Вид встречался в прибрежном планктоне косы Карасукут (станция 2) при солености 240–250‰.

*Cocconeis lineata* Ehrenberg, 1849 (рис. 3а)

Караева, 1972: 117, табл. I, рис. 15; Krammer, Lange-Bertalot, 1991: 87, pl. 49, fig. 1; pl. 50, fig. 2; pl. 52, fig. 1–13; Куликовский и др., 2016: 246, табл. 31, рис. 1–9.

Синонимы: *Cocconeis placentula* var. *lineata* (Ehrenberg) Van Heurck, 1885: 133, pl. 30, fig. 31; *Cocconeis placentula* f. *lineata* (Ehrenberg) Hustedt, 1957: 244, pl. 1.

Описание. Створки эллиптические, длиной 17.6–20.7 мкм, в среднем  $18.65 \pm 1.0$  мкм, и шириной 12.5–14.4 мкм, в среднем  $13.3 \pm 0.6$  мкм ( $n = 23$  створки). Штрихи радиальные, ареолированные; на шовной створке 28–30 штрихов в 10 мкм, на бесшовной – 16–18 штрихов в 10 мкм. Вид встречался в прибрежном планктоне косы Карасукут (станция 2) при солености 240–250‰.

*Cocconeis placentula* var. *euglypta* (Ehrenberg)

Grunow, 1884 (рис. 2д)

Караева, 1972: 117, табл. I, рис. 16; Krammer, Lange-Bertalot, 1991: 87, pl. 49, fig. 3; pl. 50, fig. 1; pl. 53, fig. 1–19; Куликовский и др., 2016: 245, табл. 32, рис. 1–5.

Базионим: *Cocconeis euglypta* Ehrenberg, 1854: pl. XXXIV, VI, fig. 2.

Синонимы: *Cocconeis lineata* var. *euglypta* (Ehrenberg) Grunow, 1880: 121, pl. 30, fig. 33, 34; *Cocconeis rouxii* var. *euglypta* (Ehrenberg) J. Héribaud, 1893: 46; *Cyclotella lineata* var. *euglypta* Gutwinski, 1895: 155, pl. 2–3; *Cocconeis placentula* f. *euglypta* (Ehrenberg) Hustedt, 1957: 244, pl. 1.

Описание. Створки широкоэллиптические, длиной 18.4–37.6 мкм, в среднем  $24.6 \pm 6.3$  мкм, и шириной 12.0–27.2 мкм, в среднем  $18.3 \pm 4.7$  мкм ( $n = 102$  створки). Штрихи радиальные, состоящие из удлиненных ареол; на шовной створке 15–19 штрихов в 10 мкм, на бесшовной – 20–22 штриха в 10 мкм. Микроводоросли отмечены в прибрежном планктоне зоны смешения вод (станция 1) и косы Карасукут (станция 2) при солености 60–210‰.

*Diploneis bombus* (Ehrenberg) Ehrenberg, 1853 (рис. 3б)

Прошкина-Лавренко, 1963: 138; Караева, 1972: 142, табл. III, рис. 34.

Базионим: *Pinnularia bombus* Ehrenberg, 1844: 84.

Синонимы: *Navicula bombus* (Ehrenberg) Kützing, 1849: 83; *Schizonema bombus* (Ehrenberg) Kuntze, 1898: 552.

Описание. Створки гитаровидные, сильно суженные посередине, длиной 41.8–73.6 мкм, в среднем  $59.4 \pm 10.8$  мкм; шириной 25.6–35.2 мкм, в среднем  $29.6 \pm 3.7$  мкм; ширина створки на середине 14.4–20.8 мкм, в среднем  $17.9 \pm 1.7$  мкм ( $n = 82$  створки). Концы створок клиновидно-закругленные. Штрихи радиальные, 6–9 в 10 мкм. Вид встречался в прибрежном планктоне зоны смешения вод (станция 1), косы Карасукут (стан-

ция 2) и южнее прол. Кара-Богаз-Гол (станция 3) при солености 73.2–210.0‰.

*Diploneis didymus* (Ehrenberg) Ehrenberg, 1845 (рис. 2е)

Караева, 1972: 140, табл. III, рис. 39; Krammer, Lange-Bertalot, 1986: 292, pl. 112, fig. 7.

Базионим: *Pinnularia didymus* Ehrenberg, 1844: 85.

Синоним: *Schizonema didymus* (Ehrenberg) Kuntze, 1898: 552.

Описание. Створки гитаровидные, слегка суженные посередине, длиной 32.0–62.4 мкм, в среднем  $50.1 \pm 7.3$  мкм, и шириной 17.6–32.0 мкм, в среднем  $24.9 \pm 5.2$  мкм; ширина створки на середине 13.0–24.3 мкм, в среднем  $19.1 \pm 3.8$  мкм ( $n = 58$  створок). Штрихи грубые, радиальные, 7–10 штрихов в 10 мкм. Вид отмечен в прибрежном планктоне зоны смешения вод (станция 1) и косы Карасукут (станция 2) при солености 70–242‰.

*Epithemia sorex* Kützing, 1844 (рис. 3в)

Караева, 1972: 117, табл. I, рис. 16; Krammer, Lange-Bertalot, 1988: 154, pl. 106, fig. 1–13; Куликовский и др., 2016: 395, табл. 146, рис. 11–18.

Синонимы: *Eunotia westermanni* var. *sorex* (Kützing) G. Rabenhorst, 1846: 18; *Eunotia sorex* (Kützing) G. Rabenhorst, 1853: 18, pl. 1, fig. 7; *Cystopleura sorex* (Kützing) Kuntze, 1891: 891.

Описание. Створки дугообразные, с вогнутым брюшным и выпуклым спинным краями, к концам постепенно суживающиеся, длиной 35.2–46.4 мкм, в среднем  $39.3 \pm 3.8$  мкм, и шириной 11.2–14.4 мкм, в среднем  $13.0 \pm 1.0$  мкм ( $n = 43$  створки). Ребра слабозаметные. Штрихи радиальные, ареолированные, 10–12 штрихов в 10 мкм. Вид встречался в прибрежном планктоне зоны смешения вод (станция 1) при солености 73.2‰.

*Navicula gregaria* Donkin, 1861 (рис. 3г, 3д)

Караева, 1972: 148, табл. V, рис. 61; Krammer, Lange-Bertalot, 1986: 116, pl. 38, fig. 10–15; Куликовский и др., 2016: 330, табл. 55, рис. 49–53.

Описание. Створки ланцетные, с сильно оттянутыми субголовчатыми концами, длиной 26.2–27.9 мкм, в среднем  $26.8 \pm 0.6$  мкм, и шириной 6.3–7.3 мкм, в среднем  $6.9 \pm 0.4$  мкм ( $n = 28$  створок). Среднее поле слабовыраженное. Штрихи тонкие, линеолированные, слабо радиальные, к концам конвергентные, 16–17 штрихов в 10 мкм. Линеол в штрихах, хорошо заметных только в СЭМ, 28–32 в 10 мкм. Вид встречался в прибрежном планктоне зоны смешения вод (станция 1) при солености 44‰.

*Navicula peregrina* (Ehrenberg) Kützing, 1844 (рис. 3з)

Забелина и др., 1951: 316, рис. 178, 1; Караева, 1972: 156, табл. IV, рис. 47.

Базионим: *Pinnularia peregrina* Ehrenberg, 1843: 421, pl. 1, fig. 5–6; pl. 2, fig. 22; pl. 3, fig. 3.

Синоним: *Schizonema peregrinum* (Ehrenberg) Kuntze, 1898: 554.

Описание. Створки ланцетные, длиной 50.0–105.6 мкм, в среднем  $81.3 \pm 18.3$  мкм, и шириной 10.0–20.0 мкм, в среднем  $15.6 \pm 3.6$  мкм ( $n = 128$  створок). Концы широкозакругленные, тупые. Штрихи грубые, линеолированные, радиальные, у концов створки конвергентные, на середине створки более редкие, 7–8 в 10 мкм. Осевое поле ланцетное, среднее поле эллиптически-прямоугольное, расширенное в стороны. Вид отмечен в прибрежном планктоне зоны смешения вод (станция 1) и косы Карасукот (станция 2) при солености 68–250‰.

*Nitzschia dissipata* (Kützing) Rabenhorst, 1860 (рис. 3е, 3ж; 4а, 4б)

Hofmann et al., 2011: 441, pl. 109, fig. 8–18; Куликовский и др., 2016: 401, табл. 142, рис. 8–15.

Базионим: *Synedra dissipata* Kützing, 1844: 64, pl. 14, fig. 3.

Синонимы: *Nitzschia palea* f. *dissipata* (Kützing) Rabenhorst, 1864: 160; *Homoeocladia dissipata* (Kützing) Kuntze, 1898: 409; *Nitzschia palea* var. *dissipata* (Kützing) Schönfeldt, 1907: 225.

Описание. Створки линейно-ланцетные, с оттянутыми широкозакругленными субголовчатыми концами, длиной 17.7–58.3 мкм, в среднем  $33.4 \pm 11.4$  мкм, и шириной 4.8–7.2 мкм, в среднем  $6.3 \pm 0.9$  мкм ( $n = 72$  створки). Фибул 9–13 в 10 мкм. Штрихи на створке слабозаметные, параллельные, 25–35 штрихов в 10 мкм, состоящие из мелких округлых ареол, хорошо различимых в СЭМ. Вид отмечен в прибрежном планктоне зоны смешения вод (станция 1), косы Карасукот (станция 2) и района южнее прол. Кара-Богаз-Гол (станция 3) при солености 50–240‰.

*Planothidium* cf. *lanceolatum* (Brébisson ex Kützing)

Lange-Bertalot, 1999 (рис. 4в, 4г, 4д, 4е)

Van de Vijver et al., 2013: 108, fig. 2–60.

Базионим: *Achnanthis lanceolatum* Brébisson ex Kützing, 1846: 247.

Синонимы: *Achnanthes lanceolata* (Brébisson ex Kützing) Grunow, 1880: 27, pl. XXVII, fig. 8; Забелина и др., 1951: 221, рис. 124, 1; Krammer, Lange-Bertalot, 1991: 75, pl. 41, fig. 1–8, 25; Генкал, 1992: 22, табл. 61, рис. 1–3; *Microneis lanceolata* (Brébisson ex Kützing) Frenguelli, 1923: 72, pl. 6, fig. 18–19; *Achnanthisopsis lanceolata* (Brébisson ex Kützing) Lange-Bertalot, 1997: 201, 207, fig. 11–12.

Описание. Створки ланцетные, длиной 16.8–31.8 мкм, в среднем  $22.9 \pm 5.9$  мкм, и шириной 7.3–9.5 мкм, в среднем  $8.5 \pm 0.7$  мкм ( $n = 75$  створок), концы широкозакругленные. Створка со швом имеет линейное осевое поле; среднее поле прямоугольно расширено в стороны, не доходит до краев створки. Бесшовная створка с линейно-ланцетным осевым полем, которое иногда в центральной части ромбически расширено. В середине бесшовной створки имеется подковообразная структура. Штрихи радиальные, грубые, 9–11 в 10 мкм. В заливе вид отмечен в прибрежном

планктоне зоны смешения вод (станция 1) и косы Карасукот (станция 2) при солености 50–240‰.

*Surirella brebissonii* var. *kuetzingii* Krammer ex Lange-Bertalot, 1987 (рис. 4ж)

Krammer, Lange-Bertalot, 1988: 180, pl. 127, fig. 1–8.

Описание. Створки яйцевидные, верхний конец широкозакругленный, нижний — к концу суженный, остро закругленный, длиной 24.3 мкм и шириной 12.0 мкм ( $n = 1$  створка). Ребра нежные, сильно радиальные, 6–8 в 10 мкм. Микроводоросли отмечали в прибрежном планктоне зоны смешения вод (станция 1) при солености 73.2‰.

*Tryblionella compressa* (Bailey) Poulin, 1990 (рис. 4з)

Bertolli et al., 2020: 6, fig. 2K–M, fig. 6E–G.

Базионим: *Pyxidicula compressa* Bailey, 1851: 40, pl. 2, fig. 13–14.

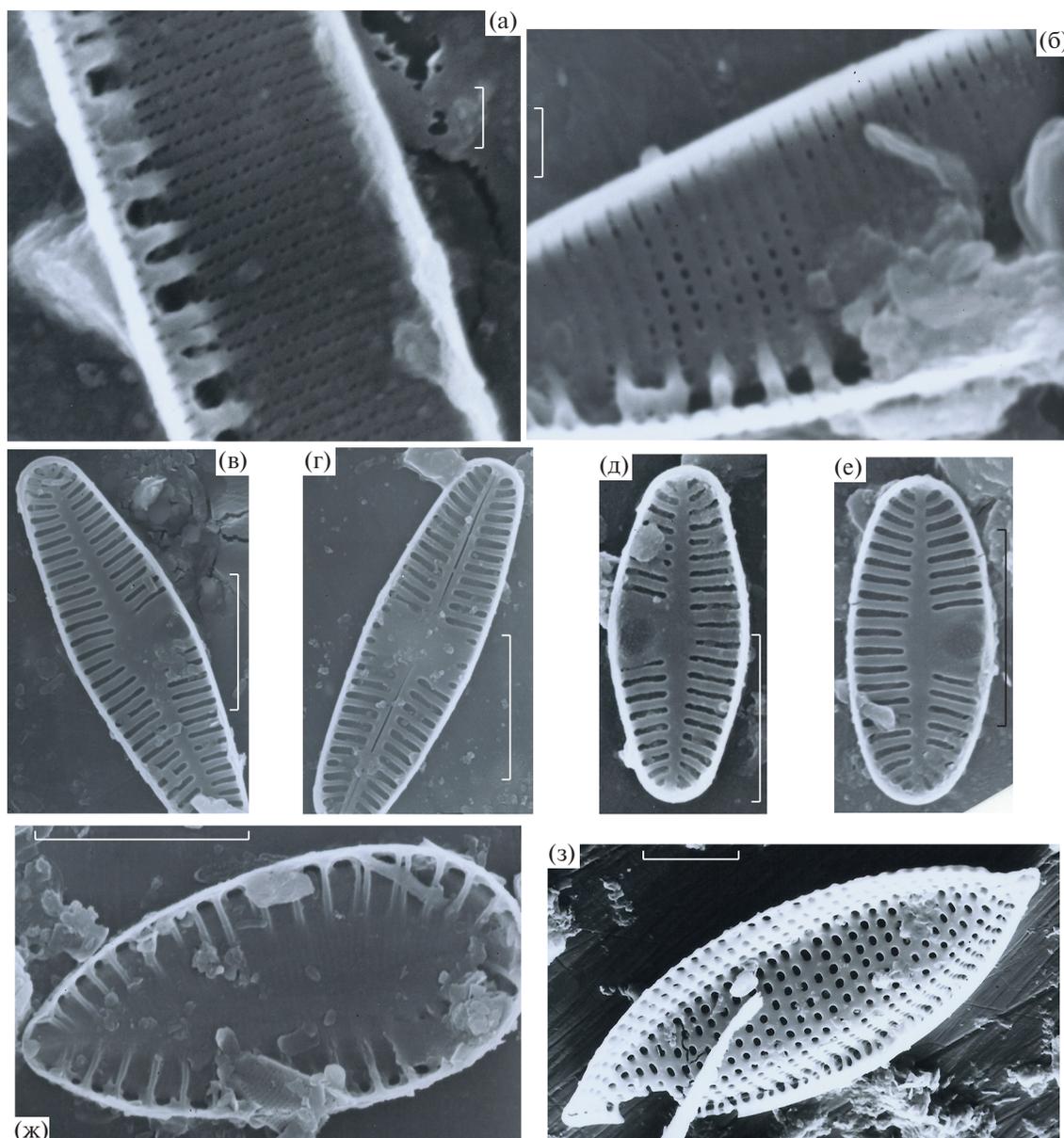
Синонимы: *Dinopyxis compressa* (Bailey) Stein 1883: 1, pl. 1, fig. 34–38; *Exuviaella compressa* (Bailey) Ostefeld, 1899: 59; *Nitzschia compressa* (Bailey) C.S. Boyer, 1916: 116, pl. 39, fig. 7; Krammer, Lange-Bertalot, 1988: 46, pl. 37, fig. 1–10; *Prorocentrum compressum* (Bailey) T.H. Abé ex J.D. Dodge, 1975: 110, fig. 2F, 4H; pl. 4E, 4F.

Описание. Створки широкоэллиптически-ланцетные со слегка оттянутыми остро закругленными концами, 57.6 мкм длиной и 30.4 мкм шириной ( $n = 1$  створка). Фибул 6 в 10 мкм. Штрихов 7 в 10 мкм. Вид отмечен в прибрежном планктоне косы Карасукот (станция 2) при солености 240‰.

## ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных исследований получены оригинальные сведения об обитании в условиях гипергалинных вод зал. Кара-Богаз-Гол 13 диатомовых водорослей, относящихся к родам *Campylodiscus* Ehrenberg ex Kützing, 1844; *Cocconeis* Ehrenberg, 1836; *Diploneis* Ehrenberg ex Cleve, 1894; *Epithemia* Kützing, 1844; *Navicula* Bory, 1822; *Nitzschia* Hassall, 1845; *Planothidium* Round ex L. Bukhtiyarova, 1996; *Surirella* Turpin, 1828 и *Tryblionella* W. Smith, 1853 (см.: Guiry, Guiry, 2020).

Все диатомовые водоросли являются бентосными, обрастающими прибрежные макрофиты и различные твердые субстраты (Караева, 1972; Krammer, Lange-Bertalot, 1988). Преобладание непланктонных (бентосных) форм в водах залива, по-видимому, связано с его мелководностью. Перемешивание водных масс при постоянном ветровом волнении (Аковецкий, Богданов, 1988) приводит к выносу большинства бентосных форм в толщу воды. В результате этого формируется состав планктоценозов водоема, наиболее широко представленных в его мелководной прибрежной зоне.



**Рис. 4.** Электронные (СЭМ) микрофотографии: а, б – *Nitzschia dissipata* (а – вид структуры центральной части створки, б – вид структуры конца створки); в, г, д, е – *Planothidium* cf. *lanceolatum* (г – шовная створка; в, д, е – бесшовная створка); ж – *Surirella brebissonii* var. *kuetzingii*; з – *Tryblionella compressa*. Масштаб: а, б – 1 мкм; в, г, д, е, ж, з – 10 мкм.

Преобладание непланктонных форм диатомовых в водах зал. Кара-Богаз-Гол отмечалось нами ранее (Булатов, 2004). Так, из 65 видовых и внутривидовых таксонов диатомовых доминирующее положение занимали бентосные формы (72%) и лишь незначительная часть приходилась на планктонные формы (28%). Из ранее выявленных в заливе другими исследователями 25 таксонов бентосных диатомовых водорослей (Караева, 1972; Караева, Гаджиева, 1975; Караева, Бухтиярова, 2010) в нашем исследовании отмечено только 5 таксонов (*C. neofastuosus*, *C. lineata*, *Cocconeis scutellum*, *Navicula salinarum*, *Nitzschia scalpelliformis*).

На изменение таксономического разнообразия диатомовых в заливе, возможно, повлияло его полное перекрытие дамбой в 1980 г. (Булатов, 2020), изменившее соотношение сульфатов и хлоридов в воде (Лепешков и др., 1981).

Из встреченных в зал. Кара-Богаз-Гол диатомовых водорослей *C. echeneis*, *C. neofastuosus*, *C. lineata*, *C. placentula* var. *euglypta*, *D. bombus*, *D. didymus*, *E. sorex*, *N. gregaria*, *N. peregrina* и *N. dissipata* попали в залив из Каспийского моря (Караева, 1972), а *P. cf. lanceolatum*, *S. brebissonii* var. *kuetzingii* и *T. compressa* ранее не были отмечены в Каспийском море (Bagheri, Fallahi, 2014; Гусей-

нов и др., 2019). Известно, что *C. neofastuosus* встречается в Аральском море при солености от 93 до 134‰ (Сапожников, 2010) и в оз. Бакальское в Крыму при солености 60–110‰ (Неврова, Шадрин, 2005). Наши исследования показали, что этот вид способен обитать и при более критической солености 240–250‰.

В отношении видов *C. echeneis*, *C. placentula* var. *euglypta*, *C. lineata*, *D. bombus*, *D. didymus*, *E. sorex*, *N. gregaria*, *N. peregrina*, *N. dissipata*, *S. brebissonii* var. *kuetzingii* и *T. compressa*, ранее считавшихся обитателями пресных, солоноватых и морских вод с умеренной соленостью (Забелина и др., 1951; Караева, 1972; Krammer, Lange-Bertalot, 1986, 1988, 1991; Куликовский и др., 2016; Bertolli et al., 2020), полученные нами данные позволили расширить пределы их солевыносливости и отнести к галофилам.

Известно, что длина и ширина створок *C. placentula* var. *euglypta* из популяции в Каспийском море составляют соответственно 18.0–29.7 и 12.2–16.4 мкм, *D. bombus* – 31.0–60.8 и 14.3–23.4 мкм, *D. didymus* – 30.3–50.4 и 11.6–22.0 мкм, *E. sorex* – 11.0–33.2 и 5.5–7.7 мкм, *N. dissipata* – 16.5–33.0 и 3.3–5.5 мкм, а *C. echeneis* – 86.0–148.4 мкм (Караева, 1972). Створки *C. placentula* var. *euglypta*, *D. bombus*, *D. didymus*, *E. sorex*, *N. dissipata* и *C. echeneis* из зал. Кара-Богаз-Гол отличались большими размерами по сравнению со створками этих водорослей из Каспийского моря. Створки больших размеров у указанных видов диатомовых водорослей отмечены также в Черном море, соленость воды в котором выше, чем в Каспийском море (Прошкина-Лавренко, 1963).

На всех станциях отбора проб в зал. Кара-Богаз-Гол найден *P. cf. lanceolatum*, створки которого внешне были схожи со створками *Planothidium lanceolatum*. По литературным данным (Забелина и др., 1951; Krammer, Lange-Bertalot, 1991; Генкал, 1992) *P. lanceolatum* является пресноводным видом, ранее не встречавшимся в Каспийском море, но обитающим во впадающей в море р. Волга и ее водохранилищах – Ивановском, Угличском, Горьковском и Чебоксарском (Генкал, 1992). Характерной особенностью створок *P. cf. lanceolatum* из зал. Кара-Богаз-Гол является стабильно низкое число штрихов. От протолога (Lange-Bertalot, 1999; Van de Vijver et al., 2013), а также волжской популяции *P. lanceolatum* (см.: Генкал, 1992) створки *P. cf. lanceolatum* отличаются меньшей частотой штрихов (9–11 против 12–17 в 10 мкм).

Число штрихов (10–12 в 10 мкм) на створках *E. sorex* из зал. Кара-Богаз-Гол также было меньше, чем указано в известных диагнозах (Забелина и др., 1951; Караева, 1972; Куликовский и др., 2016), в которых для створки *E. sorex* указано 12–15 штрихов в 10 мкм. Причем штрихи на створках у *E. sorex* из залива были грубее, поэтому при наблюдении в СМ характерные для данного вида

радиальные ребра на створках (Куликовский и др., 2016) почти не были заметны.

Для *N. dissipata* из залива также отмечено уменьшение числа штрихов на створке по сравнению с таковым в известных диагнозах: 25–35 штрихов в 10 мкм против 39–50 в 10 мкм (Hofmann et al., 2011; Куликовский и др., 2016).

Таким образом, установлено, что соленость в зал. Кара-Богаз-Гол является фактором, определяющим морфологию створок диатомей: чем выше соленость воды, тем крупнее створки и меньше число структурных элементов на них. По-видимому, в создавшихся условиях соленость среды может выступать в качестве одного из факторов видообразования в заливе.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет 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

- Аковецкий В.И., Богданов И.Я. Кара-Богаз-Гол: вчера, сегодня, завтра. Ашхабад: Ылым. 1988. 195 с.
- Булатов С.А. Структура и состояние диатомовых сообществ высокоминерализованных вод залива Кара-Богаз-Гол // Тез. докл. VIII школы диатомологов России и стран СНГ “Морфология, экология и биогеография диатомовых водорослей”. Борок: Ярославский гос. ун-т. 2002. С. 11–12.
- Булатов С.А. Особенности экологии артемии ультрагалинного залива Кара-Богаз-Гол и некоторые аспекты ее питания в естественных условиях // Материалы докл. междунар. научно-исслед. конф. “Биоразнообразие Артемии в странах СНГ: современное состояние ресурсов и их использование”. Тюмень. ФГУП “Госрыбцентр”. 2004. С. 94–104.
- Булатов С.А. Новый вид Bacillariophyta из залива Кара-Богаз-Гол (Каспийское море, Туркменистан) // Альгология. 2020. Т. 30. № 2. С. 211–218.
- Булатов С.А., Шакирова Ф.М. Современное состояние популяции *Artemia* sp. (Crustacea, Branchiopoda) залива Кара-Богаз-Гол и перспективы ее рационального использования // Selevinia. 2005. С. 123–128.
- Генкал С.И. Атлас диатомовых водорослей планктона реки Волги. Санкт-Петербург: Гидрометеоздат. 1992. 128 с.
- Гусейнов М.К., Гасанова А.Ш., Гусейнов К.М., Хлоткова М.В. К изучению видового разнообразия фитопланктона Среднего Каспия // Вестн. Дагестан. науч. центра. 2019. № 75. С. 11–17.
- Забелина М.М., Киселев И.А., Прошкина-Лавренко А.И., Шешукова В.С. Определитель пресноводных водо-

- рослей СССР: Диатомовые водоросли. Вып. 4. М.: Советская наука. 1951. 618 с.
- Караева Н.И. Диатомовые водоросли бентоса Каспийского моря. Баку: Элм. 1972. 258 с.
- Караева Н.И., Гаджиева М.А. Новые данные к изучению диатомовых водорослей Каспийского моря // Новости системат. низш. раст. 1975. Т. 12. С. 123–129.
- Караева Н.И., Бухтиярова Л.Н. Дополнения к флоре Bacillariophyta Каспийского моря. I // Альгология. 2010. Т. 20. № 4. С. 471–481.
- Куликовский М.С., Глущенко А.М., Генкал С.И., Кузнецова И.В. Определитель диатомовых водорослей России. Ярославль: Филигрань. 2016. 804 с.
- Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа. 1980. 293 с.
- Лепешков И.Н., Буйневич Д.В., Буйневич Н.А., Седельников Г.С. Перспективы использования солевых богатств Кара-Богаз-Гола. М.: Наука. 1981. 274 с.
- Неврова Е.Л., Шадрин Н.В. Донные диатомовые водоросли соленых озер Крыма // Мор. екол. журн. 2005. Т. 4. № 4. С. 61–71.
- Прошкина-Лавренко А.И. Диатомовые водоросли планктона Черного моря. М.; Л.: Изд-во АН СССР. 1955. 222 с.
- Прошкина-Лавренко А.И. Диатомовые водоросли бентоса Черного моря. М.; Л.: Изд-во АН СССР. 1963. 243 с.
- Сапожников Ф.В. Ценозы донных микроводорослей Большого Арала на этапе ультрагалинизации // Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М.: Ин-т океанологии им. П.П. Ширшова. 2010. 22 с.
- Bagheri S., Fallahi M. Checklist of phytoplankton taxa in the Iranian Waters of the Caspian Sea // Caspian J. Env. Sci. 2014. V. 12. № 1. P. 81–97.
- Bertolli L.M., Talgatti D.M., Nascimento T.M.S., Torgan L.C. The genus *Tryblionella* W. Smith (Bacillariaceae, Bacillariophyta) in southern Brazil salt marshes // Biota Neotropica. 2020. V. 20. № 1. e20190774.
- Clark W.J. An evaluation of methods of concentrating and counting the phytoplankton of Bear Lake // A thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science. Utah. 1956. 51 p.
- Hofmann G., Werum M., Lange-Bertalot H. Diatomeen im Süßwasser-Benthos von Mitteleuropa. Königstein: A.R.G. Gantner Verlag K.G. 2011. 908 p.
- Guiry M.D., Guiry G.M. AlgaeBase. World-wide electronic publication. National University of Ireland. Galway. 2020. <https://www.algaebase.org>. Cited November 06, 2020.
- Krammer K., Lange-Bertalot H. Bacillariophyceae, Teil 1, Naviculaceae // Süßwasserflora von Mitteleuropa. Stuttgart, New York: Gustav Fischer Verlag. V. 2/1. 1986. 876 p.
- Krammer K., Lange-Bertalot H. Bacillariophyceae, Teil 2. Bacillariaceae, Epithemiaceae, Surirellaceae // Süßwasserflora von Mitteleuropa. Jena: Gustav Fischer Verlag. V. 2/2. 1988. 596 p.
- Krammer K., Lange-Bertalot H. Bacillariophyceae, Teil 4, Achnanthaceae, Kritische Ergänzungen zu *Navicula* (Lineolatae) und *Gomphonema* // Süßwasserflora von Mitteleuropa. Stuttgart, Jena: Gustav Fischer Verlag. V. 2/4. 1991. 434 p.
- Lange-Bertalot H. Neue kombinationen von taxa aus *Achnanthes* Bory (sensu lato) // Iconographia Diatomologica, Annotated Diatom Micrographs. V. 6. Vaduz: A.R.G. Gantner Verlag K.G. 1999. P. 270–283.
- Round F.E., Crawford R.M., Mann D.G. The Diatoms: Biology and Morphology of the Genera. Cambridge, New York: University Press. 1990. 747 p.
- Sims P.A. An atlas of British diatoms. Bristol: Biopress Ltd. 1996. 600 p.
- Van de Vijver B., Wetzel C., Kopalová K. et al. Analysis of the type material of *Achnantheidium lanceolatum* Brébisson ex Kützing (Bacillariophyta) with the description of two new *Planothidium* species from the Antarctic Region // Fottea. Olomouc. 2013. V. 13. № 2. P. 105–117. <https://doi.org/10.5507/fot.2013.010>

## Diatom Flora (Bacillariophyta) of Kara-Bogaz-Gol Bay, the Caspian Sea: New Data

S. A. Bulatov

International Institute for Modeling and Forecasting the Development of Marine and Hypersaline Ecosystems LLC,  
Klin 141603, Russia

The study of diatoms (Bacillariophyta) collected in 2000–2001 with a plankton net from the hypersaline Kara-Bogaz-Gol Bay revealed 13 species and varieties of the genera *Campylodiscus*, *Cocconeis*, *Diploneis*, *Epithemia*, *Navicula*, *Nitzschia*, *Planothidium*, *Surirella*, and *Tryblionella*. These diatoms occurred at water salinities from 44 to 250‰. Consequently, salt-tolerance limits were extended for most taxa: eleven species and varieties previously considered in the literature as less salt-tolerant appeared to be halophilous. *Planothidium* cf. *lanceolatum*, *Epithemia sores* and *Nitzschia dissipata* differed from their diagnoses by a smaller number of striae on their valves (9–11, 10–12 and 25–35 striae in 10 µm, respectively). *P.* cf. *lanceolatum*, *Surirella brebissonii* var. *kuetzingii*, and *Tryblionella compressa* are the first records for the Caspian Sea.

**Keywords:** diatoms, Kara-Bogaz-Gol, Caspian Sea, Bacillariophyceae, salinity, halophiles

УДК 582.232(574.586)

## ВИДОВОЙ СОСТАВ И ЭКОЛОГИЯ ЦИАНОБАКТЕРИЙ ЛИТОРАЛИ КОЛЬСКОГО ЗАЛИВА БАРЕНЦЕВА МОРЯ

© 2021 г. Е. С. Мирошниченко\*

Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, Севастополь 299011, Россия

\*e-mail: esmiroshnichenko@ibss-ras.ru

Поступила в редакцию 29.06.2020 г.

После доработки 29.12.2020 г.

Принята к публикации 01.04.2021 г.

Представлены результаты исследования сообществ цианобактерий обрастания природных и антропогенных субстратов литорали Кольского залива Баренцева моря в 2010–2019 гг. Обнаружено 95 видов цианобактерий, принадлежавших 6 порядкам, 20 семействам и 46 родам, из которых 22 вида приведены впервые для Баренцева моря. Большинство цианобактерий относились к бентосным видам (70%), обитавшим преимущественно на природных субстратах. Обилие видов от нижней литорали к супралиторали снижалось. Доля планктонных и бенто-планктонных видов цианобактерий составляла 12 и 18% соответственно. На литорали залива встречались пресноводные (44%), морские (37%), солоноватоводные (3%) и эвригалинные (16%) виды. Выявлено 27 индикаторов среды, большинство из которых олиго- и олиго-бетамезосапробионты. Среди цианобактерий отмечены преимущественно бореально-тропически-нотальные (26%), космополитные (23%) и бореальные (18%) виды. По количеству видов цианобактерий выявлены ранневесенний (март) и осенний (октябрь) пики. Индекс видового сходства был наименьшим для районов с повышенной антропогенной нагрузкой от морских портовых городов.

**Ключевые слова:** цианобактерии, литораль, видовой состав, экологические группы, фитогеография, Кольский залив, Баренцево море

**DOI:** 10.31857/S0134347521040112

Изучение биологического разнообразия в настоящее время становится все более актуальным, особенно при анализе видовой состава биоты на региональном уровне. Первые упоминания о цианобактериях в Баренцевом море связаны с именем Челльмана (Kjellman, 1883), который описал находки *Calothrix scopulorum* C. Agardh ex Bornet & Flahault на побережье о-ва Новая Земля и о-ва Вайгач. В Кольском заливе Баренцева моря цианобактерии впервые были описаны Ельфвингом (Elfving, 1895), а также отечественными учеными Еленкиным (1906) и Зиновой (1912). В дальнейшем литературные данные и результаты собственных исследований цианобактерий приливо-отливной зоны Баренцева моря, в том числе Кольского залива, были обобщены в ряде работ (Белякова, 2002, 2005, 2006) и представлены в аннотированных списках 94 видами. Для фитопланктона Кольского залива Баренцева моря известно 25 видов цианобактерий (Макаревич, 2004). В результате проведенного молекулярно-генетического исследования эпифитных бактерий фукусовых водорослей из Кольского залива (район г. Мурманска) было установлено, что цианобактерии составляли 6,8% от всего изученного

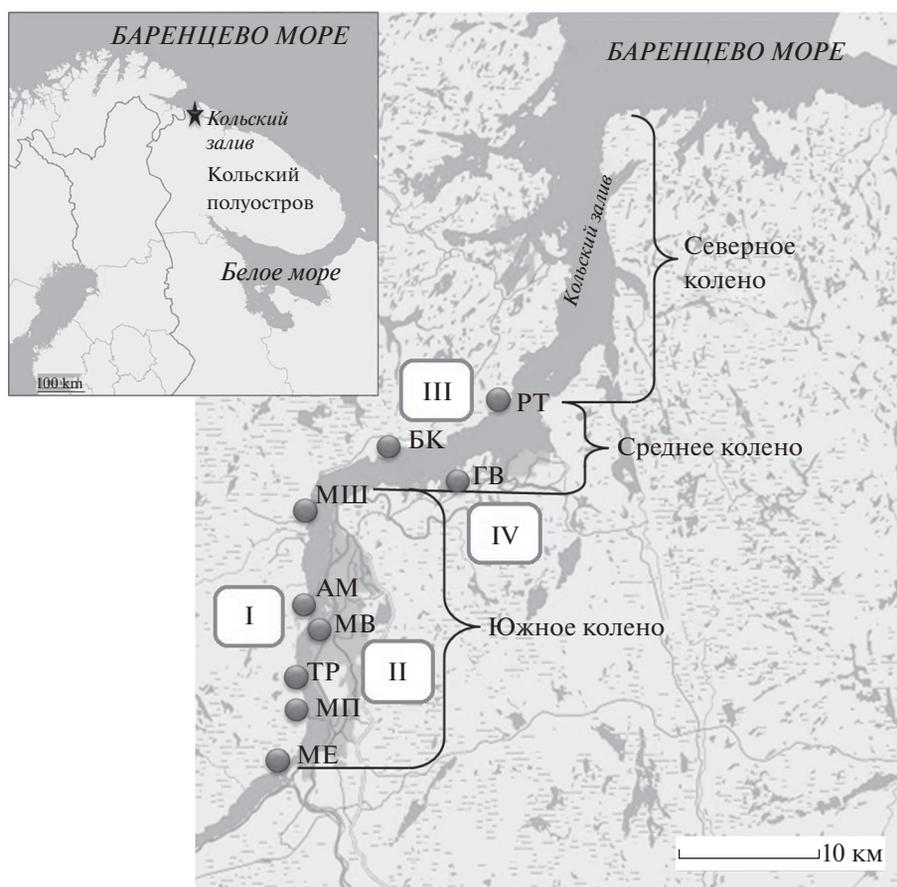
бактериального сообщества (Пуговкин и др., 2016). В других работах по изучению цианобактерий литорали Кольского залива описано 68 видов цианобактерий (Луценко и др., 2013; Мирошниченко, Москвина, 2016). Таким образом, имеющиеся сведения о цианобактериях в баренцево-морских экосистемах фрагментарны и не дают полного представления о составе их сообществ.

Цель настоящей работы – анализ видовой состава и экологии цианобактерий литорали Кольского залива Баренцева моря.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В статье проанализированы результаты работ, проведенных с сентября 2010 г. по апрель 2012 г. (Луценко и др., 2013), с января по май 2014 г. (Мирошниченко, Москвина, 2016) и с февраля по июнь 2019 г. Материал собирали на девяти станциях западного и восточного берегов южного и среднего колен Кольского залива Баренцева моря. Станции объединены в группы по районам (I–IV) исследования (рис. 1).

Материал собирали во время сизигийных отливов с поверхности субстратов разных типов в



**Рис. 1.** Карта-схема Кольского залива Баренцева моря с указанием станций отбора проб и районов исследования. ME – мыс Еловый; MP – мыс Притыка; TP – Три Ручья; AM – Абрам-мыс; MШ – мыс Мишуков; MB – район Морского вокзала г. Мурманска; BK – губа Белокаменная; RT – губа Ретинская; GV – губа Варламова в районе ЗАТО г. Североморск.

супралиторали, верхнем, среднем и нижнем горизонтах литорали методом соскоба скальпелем (всего 355 проб). Были обследованы скалы и валуны (262 пробы), металлические причалы и бетонные блоки, деревянные, стеклянные, резиновые и пластиковые предметы, поверхность раковин моллюсков, макрофитов и лишайников (93 пробы). Нативные препараты изучали под световыми микроскопами “Микромед-2” (Россия) и “Carl Zeiss AxioScore 40” (Германия) при увеличении  $\times 400$  и  $\times 1000$ .

Для определения видового статуса цианобактерий использовали фундаментальные работы Комарека и Анагностидиса (Komárek, Anagnostidis, 1998, 2005; Komárek, 2013). Фитогеографическая принадлежность (Зернов, 1949; Рябушко, 2013) и экологическая характеристика видов приведены по литературным источникам и базам данных (Komárek, Anagnostidis, 1998, 2005; Komárek, 2013; Баринава и др., 2019; Guiry, Guiry, 2020). Встречаемость видов (P, %) оценивали по отношению количества проб, в которых обнаружен вид, к общему количеству проб, а сходство видов

в сообществах – по коэффициенту Сьеренсена ( $K_S$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

На литорали Кольского залива Баренцева моря обнаружено 95 видов цианобактерий, относящихся к 46 родам, 20 семействам и 6 порядкам; 22 вида в этом море отмечены впервые (табл. 1).

Наибольшим числом видов были представлены роды *Leptolyngbya* (9 видов), *Pseudanabaena* (7), *Chroococcus* (6), *Calothrix* (6), *Phormidium* (5) и *Aphanocapsa* (4 вида). На их долю приходилось 39% от всех зарегистрированных видов. Цианобактерии 23 родов были представлены одним видом.

Среди цианобактерий литорали преобладали бентосные виды, которые составляли от 56 (район IV) до 63% (район I) видового состава. На долю планктонных видов приходилось от 12 (районы I и II) до 20% (район IV), бенто-планктонных – от 12 (район IV) до 19% (район II).

Таблица 1. Цианобактерии, обнаруженные на литорали Кольского залива Баренцева моря

№ п/п	Таксон	Э	Г	ФГ	Район	Горизонт литорали
1	<i>Ammatoidea murmanica</i> Ju. E. Petrov	Б	М	АБнот	III; IV	в, н
2	<i>Anathece smithii</i> (Komárk.-Legn. & Cronberg) Komárek, Kastovsky & Jezberová	Пл	П	АБТнот	I; II; III	в, с, н
3	<i>Aphanocapsa holsatica</i> (Lemm.) Cronberg & Komárek	Пл	М, П	К	II	с, н
4	<i>A. litoralis</i> Hansg.	БП	М, С, П	К	I; II; III	сл, в, с, н
5*	<i>A. marina</i> Haansg.	Б	М, П	АБТнот	I	в, н
6	<i>A. salina</i> Woron.	Б	С	АБТ	I; II	в, с
7*	<i>Aphanothece biceps</i> Skuja	БП	П	Б	II	н
8*	<i>A. elabens</i> (Brèb. ex Menegh.) Elenkin	БП	П	К	I	в
9	<i>A. marina</i> (Erceg.) Komárek & Anagn.	Б	М	Б	I; II	в, н
10	<i>Calothrix aeruginea</i> Thur. ex Bornet & Flah.	Эп	М	БТнот	I; II; III	сл, в, с, н
11	<i>C. confervicola</i> C. Agardh ex Bornet & Flah.	Б, Эп	М	БТнот	I	в
12	<i>C. fusca</i> Bornet & Flah.	Эп, Н	М	К	I	в, с
13	<i>C. parietina</i> Thur. ex Bornet & Flah.	Б, Н	П	К	I; III	сл, в, с, н
14	<i>C. parva</i> Erceg.	Б, Н	М	Б	I; III	сл, в, с, н
15	<i>C. scopulorum</i> C. Agardh ex Bornet & Flah.	Б, Н	М	АБТнот	I; III; IV	сл, в, с, н
16	<i>Chroococciopsis fissurarum</i> (Erceg.) Komárek & Anagn.	Б, Н	М	БТнот	II	с
17	<i>Chroococciopsis amethystea</i> (Rosenv.) Geitler	Б, Эп	М	АБ	IV	н
18	<i>C. fluviatilis</i> (Lagerh.) Komárek & Anagn.	Б	П	Бнот	I; III; IV	в, с, н
19	<i>Chroococcus</i> cf. <i>cohaerens</i> (Brèb.) Nägeli	Б, Н	П	К	I; III	в, с, н
20*	<i>C. dispersus</i> (Keissl.) Lemm.	Пл	П	К	IV	с
21*	<i>C. minimus</i> (Keissl.) Lemm.	БП	П	АБТ	I	в
22	<i>C. minutus</i> (Kütz.) Nägeli	БП	П	К	I; II	сл, в, с, н
23	<i>C. turgidus</i> (Kütz.) Nägeli	БП, Н	М, П	К	I; IV	с
24*	<i>C. vacuolatus</i> Skuja	БП	П	Б	III	н
25	<i>Coleofasciculus chthonoplastes</i> (Thur. ex Gom.) M. Siegesmund, Johansen & Friedl.	Б, Н	М	К	II; IV	сл, н
26*	<i>Cyanobium gaarderi</i> (Ålvik) Komárek, Kopecký & Cepák	Пл	М	Б	II; III	в, с, н
27*	<i>C. waterburyi</i> Komárek	Пл	М	БТнот	I	н
28	<i>Cyanocystis olivacea</i> (Reinsch) Komárek & Anagn.	Б, Эп	М	БТнот	I; II; III; IV	в, с, н
29	<i>Cyanosarcina</i> cf. <i>chroococcoides</i> (Geitler) Kováčik	Б, Н	П	БТнот	I	н
30	<i>Cyanothece aeruginosa</i> (Nägeli) Komárek	БП, Эп, Н	П	К	II	с, н
31	<i>Dermocarpa acervata</i> (Setch. & Gardner) Pham-Hoàng Hô	Б, Эп	М	БТнот	I; II	с
32	<i>Eucapsis microscopica</i> (Komárk.-Legn. & Cronberg) Komárek & Hindák	Пл	П	Бнот	I; III	в, с, н
33	<i>Eucapsis</i> cf. <i>minor</i> (Skuja) Elenkin	БП	П	АБТнот	III	с
34*	<i>Gloeocapsa</i> cf. <i>punctata</i> Nägeli	Эп, Н	П	К	I	в
35	<i>G. salina</i> Hansg.	Б, Н	П	Б	I; III	в, н
36	<i>Gloeocapsopsis crepidinum</i> (Thur.) Geitler ex Komárek	Б, Н	П	К	I; III; IV	в, с, н

Таблица 1. Продолжение

№ п/п	Таксон	Э	Г	ФГ	Район	Горизонт литорали
37	<i>Gloeotheca subtilis</i> Skuja	Б	П	АБнот	III	н
38	<i>Heteroleibleinia epiphytica</i> Komárek	Эп	М, П	БТнот	I; II; III; IV	сл, в, с, н
39*	<i>Jaagineta gracile</i> (Böcher) Anagn. & Komárek	БП	П	АБТ	III	н
40*	<i>J. pallidum</i> (Böcher) Anagn. & Komárek	Б	П	Б	II	сл, в, с
41	<i>Kamptonema laetevirens</i> (H. Crouan & P. Crouan ex Gom.) Strunecký, Komárek & J. Smarda	Б	П	БТнот	II; III; IV	сл, в, с, н
42	<i>Komvophoron breve</i> (N. Carter) Anagn.	Б	С	Б	I; III	сл, в, с, н
43	<i>Leibleinia epiphytica</i> (Hieron.) Compère	Эп	П	БТнот	I; II; III	сл, в, с, н
44	<i>L. subtilis</i> (Holden) Anagn. & Komárek	Б, Эп	М	Тнот	I; III	сл, н
45	<i>Leptolyngbya ectocarpi</i> (Gom.) Anagn. & Komárek	Б, Эп	М	БТ	III	н
46	<i>L. foveolarum</i> (Gom.) Anagn. & Komárek	Б, Н	П	БТ	I	н
47	<i>L. fragilis</i> (Gom.) Anagn. & Komárek	Б, Н	М	БТнот	I; II; III; IV	сл, в, с, н
48	<i>L. frigida</i> (Fritsch) Anagn. & Komárek	БП, Н	П	АБнот	I; II; III	в, с, н
49	<i>L. gracilis</i> (Lindstedt) Anagn. & Komárek	Б	М	БТ	I; II	сл, в, с
50	<i>L. minuta</i> (Lindstedt) Anagn. & Komárek	Б	М	Б	II	сл, в, с
51	<i>L. mycoidea</i> (Frémy) Anagn.	БП, Эп	М	Б	I; III	с, н
52	<i>L. norvegica</i> (Gom.) Anagn. & Komárek	Б	М, П	Б	I; III	в, н
53	<i>L. saxicola</i> (Gardner) Anagn.	Б	М	БТ	II; IV	с, н
54	<i>Lyngbya lutea</i> Gom. ex Gom.	БП	М, С, П	К	I; II	в, с
55	<i>L. meneghiniana</i> Gom.	Б, Эп	М, П	БТнот	I; II; IV	в, с, н
56	<i>Merismopedia cf. tenuissima</i> Lemm.	БП	М, П	К	II	н
57*	<i>M. warmingiana</i> (Lagerh.) Forti	Пл, Н	М, С, П	Бнот	II; III	н
58	<i>Microcystis firma</i> (Kütz.) Schmidle	Пл	П	БТнот	I; II; III	в, с, н
59	<i>M. natans</i> Lemm. ex Skuja	Пл	П	Бнот	I; II; III	с, н
60	<i>Myxosarcina gloeocapsoides</i> (Setch. & Gardner) Komárek & Anagn.	Б	М	Бнот	I; II	в, н
61	<i>Nostoc cf. minutissimum</i> Kütz. ex Bornet & Flah.	Б, Н	М	АБнот	I	в, с, н
62*	<i>Phormidesmis molle</i> (Gom.) Turicchia, Ventura, Komárk. & Komárek	Б, Н	П	К	III	н
63	<i>Phormidium ambiguum</i> Gom.	Б, Н	П	К	I; II	сл, с, н
64	<i>P. holdenii</i> (Forti) Branco, Sant'Anna, Azevedo & Sormus	Б, Эп	П	БТнот	I; II	в, с, н
65	<i>P. papyraceum</i> Gom. ex Gom.	Б, Н	П	К	II	с
66*	<i>P. retzii</i> Kütz. ex Gom.	Б, Н	П	К	II	в
67	<i>P. thwaitesii</i> I. Umez. & M. Watan.	Б	М	БТ	II; III	сл, в, н
68	<i>Planktothrix cf. agardhii</i> (Gom.) Anagn. & Komárek	БП	П	БТнот	II	сл
69	<i>Pleurocapsa fuliginosa</i> Hauck	Б, Н	М	БТнот	I; III; IV	в, с, н
70	<i>Pseudanabaena catenata</i> Lauterborn	БП	П	К	I; II	сл, в, с, н
71*	<i>P. galeata</i> Böcher	Б	П	АБнот	III	н
72*	<i>P. minima</i> (G. S.An) Anagn.	Б, Н	П	АБ	II	н

Таблица 1. Окончание

№ п/п	Таксон	Э	Г	ФГ	Район	Горизонт литорали
73	<i>P. mucicola</i> (Naumann & Huber-Pestalozzi) Schwabe	Эп	П	БТнот	I	в, н
74	<i>P. persicina</i> (Reinke ex Gom.) Anagn.	Б, Эп	М, П	БТ	II	н
75	<i>P. tenuis</i> Koppe	Б	П	Бнот	I	в
76	<i>P. westiana</i> Anagn.	Б, Эп	П	Б	IV	н
77	<i>Pseudocapsa maritima</i> Komárek	Б, Н	М	Тнот	I; II	сл, с, н
78	<i>P. sphaerica</i> (Pr.-Lavr.) Kováčik	Б	П	БТ	I; II; IV	в, с, н
79	<i>Pseudophormidium battersii</i> (Gom.) Anagn.	Б, Н	М	К	I; II; IV	сл, в, с, н
80	<i>P. golenkinianum</i> (Gom.) Anagn.	Б	М	К	I; II	в, с, н
81	<i>Radaisia gomontiana</i> Sauv.	Б, Эп	М	Б	I; III	в, н
82*	<i>Rhabdogloea elenkinii</i> (Roll) Komárek & Anagn.	Пл	П	Б	III	н
83*	<i>Rivularia nitida</i> C. Ag. ex Bornet & Flah.	Б	М	БТ	I	в
84	<i>Spirulina meneghiniana</i> Zanard. ex Gom.	Б, Н	М, П	БТнот	II	с
85	<i>S. subsalsa</i> Oersted ex Gom.	Б, Н	М, С, П	БТнот	III	с
86*	<i>Stichosiphon cf. subarcticus</i> S. V. Smirnova & Beljakova	Б	М	Б	I; II; III; IV	в, с, н
87*	<i>Synechococcus nidulans</i> (Pringsh.) Komárek	БП	П	БТнот	I; II; III	в, н
88*	<i>S. salinarum</i> Komárek	Б, Н	М	Б	I; III	н
89	<i>Synechocystis pevalekii</i> Erceg.	Эп, Н	С, П	БТнот	I; II; III	в, с, н
90	<i>S. salina</i> Wisl.	Пл	С	БТнот	I; II; III; IV	сл, в, с, н
91	<i>Xenococcus pyriformis</i> Setch. & Gardner	Б, Эп	М	БТнот	I; II	в, с
92*	<i>X. schousboei</i> Thur.	Б, Эп	М	БТнот	I	с
93	<i>Xenotholus kernerii</i> (Hansg.) M.Gold-Morgan, G.Montejano & J.Komárek	Б, Эп	С, П	БТнот	I; II	с, н
94	<i>X. starmachii</i> (Geitler) M.Gold-Morgan, G.Montejano & Komárek	Б, Эп	П	Б	I; II; III; IV	в, с, н
95	<i>Yonedaella lithophila</i> (Erceg.) Umez.	Б	М	Бнот	I; II; III	в, с, н

\*Вид ранее не был указан для Баренцева моря.

Примечание. Э – экологическая группа: Б – бентосный вид, Эп – эпифитный, Пл – планктонный, БП – бенто-планктонный, Н – наземный. Г – галобность: П – пресноводный; С – солоноватоводный; М – морской; М, С, П – эвригалинный. ФГ – фитогеографическая принадлежность: Б – бореальный, Бнот – бореально-нотальный, АБ – аркто-бореальный, АБнот – аркто-бореально-нотальный, БТ – бореально-тропический, БТнот – бореально-тропическо-нотальный, АБТ – аркто-бореально-тропический, АБТнот – аркто-бореально-тропическо-нотальный, Тнот – тропическо-нотальный, К – космополитный. Район обнаружения: I – западный берег южного колена, II – восточный берег южного колена, III – западный берег среднего колена, IV – восточный берег среднего колена. Горизонт литорали: сл – супралитораль; в – верхний, с – средний, н – нижний.

Цианобактерии были представлены 10 фитогеографическими группами. Основную часть составляли бореально-тропическо-нотальные (26%), космополитные (23%) и бореальные (18%) виды. На остальные семь групп цианобактерий (аркто-бореальные, аркто-бореально-нотальные, аркто-бореально-тропические, аркто-бореально-тропическо-нотальные, бореально-нотальные, бореально-тропические, тропическо-нотальные) приходилось лишь 33% от общего числа видов; каждая из этих групп включала 2–5 видов. Аркти-

ческих видов цианобактерий не выявлено. Доля трех доминирующих групп цианобактерий в разных районах залива была следующей: бореальные виды – от 12 (районы II и IV) до 24% (район III); бореально-тропическо-нотальные – от 27 (район III) до 35% (район IV), космополиты – от 14 (район III) до 26% (район II). Повсеместно преобладали пресноводные (44%) и морские (37%) виды цианобактерий. Эвригалинных и солоноватоводных видов было значительно меньше (16 и 3% соот-

ветственно). В районах I и IV доминировали морские формы, в районах II и III – пресноводные.

На природных субстратах обнаружено 92 вида цианобактерий, из них 46 видов встречались и на объектах антропогенного происхождения. На камнях, скалах, бетонных блоках, моллюсках, деревянных, металлических и стеклянных предметах обнаружено 11 видов. В приливно-отливной зоне количество видов увеличивалось от супралиторали к нижнему горизонту литорали с 23 до 71 (табл. 1), при этом возрастала доля планктонных и бенто-планктонных форм. Увеличивалась и доля эвригалинных видов с 9 до 18%.

Коэффициент сходства видового состава цианобактерий верхнего, среднего и нижнего горизонтов литорали был невысоким и составлял от 0.30 до 0.37. Сходство населения литорали и супралиторали было еще ниже – от 0.20 до 0.24. Наибольшие величины  $K_S$  определены для видового состава цианобактерий районов I и II ( $K_S = 0.57$ ), а также районов I и III ( $K_S = 0.57$ ), наименьшие ( $K_S = 0.33$ ) – для акваторий городов Мурманск (район II) и Североморск (район IV).

В сезонной динамике числа видов цианобактерий литорали залива зарегистрированы зимний минимум в январе (11 видов), ранневесенний пик в марте (49 видов) и осенний максимум в октябре (59 видов). В течение года сохранялась тенденция к доминированию бентосных видов (от 65% в августе до 82% в январе), а также наблюдалось почти равное соотношение морских (от 30% в августе до 55% в январе) и пресноводных форм (от 32% в феврале до 50% в августе). Немногочисленными были планктонные, бентопланктонные, солоноватоводные и эвригалинные виды. В целом 25 видов зарегистрированы при средней температуре воды в заливе выше 10°C, а 18 видов – только в более холодный период. В течение всего года отмечено 26 видов, из них 13 являлись морскими бентосными видами. Во все сезоны года в числе доминант присутствовали представители рода *Calothrix*, достигшие максимального развития в мае, и рода *Leptolyngbya*, преобладавшие с августа по октябрь. В октябре в группу доминант входили также представители родов *Chroococcus* и *Pseudanabaena*. В марте лидировали виды рода *Aphanocapsa*, в сентябре – рода *Phormidium*.

В составе цианобактерий отмечено 27 индикаторных видов. Большинство из них относились к олиго- и олиго-бетамезосапробионтам (7 и 6 видов соответственно), обитающим в чистых и умеренно загрязненных водах.

## ОБСУЖДЕНИЕ

По сравнению с сообществами цианобактерий российских морей Арктической зоны, насчитывающими 47 видов (Белякова, 2006), цианобакте-

риальные ценозы литорали Кольского залива Баренцева моря более разнообразны (95 видов). По разнообразию они сопоставимы с сообществами цианобактерий на участке Мурманского побережья Баренцева моря от губы Ярнышная до губы Большие Чевры (88 видов) (Белякова, 2005). В приполярном Белом море в разных районах найдено от 49 (Уланова, 2003) до 97 (Белякова, 1996) видов бентосных цианобактерий. Их разнообразие в Кольском заливе сравнимо с таковым в Казантипском природном заповеднике (83 вида) (Бондаренко и др., 2018) в Азовском море и на южном берегу Крыма в Черном море (99 видов) (Виноградова, 2017).

Таксономическая структура сообщества цианобактерий Кольского залива включала 6 порядков, из них *Synechococcales* являлся доминирующим (39%). Субдоминантами были представители порядков *Chroococcales* (20%), *Oscillatoriales* (18%) и *Pleurocapsales* (13%). На уровне семейств наибольшим разнообразием обладали *Leptolyngbyaceae* (12%), *Chroococcaceae*, *Merismopediaceae* и *Pseudanabaenaceae* (по 11%), которые суммарно составляли 43% всего сообщества. Семейство *Chroococcaceae* в группе доминант присутствовало только в районах I и IV. Семейство *Pseudanabaenaceae* в каждом из изученных районов занимало промежуточное положение по количеству видов, однако в сообществе залива в целом вошло в доминирующий компонент.

Наиболее часто в заливе встречались типичные для эпилитона полярных экосистем виды родов *Aphanocapsa*, *Calothrix*, *Chroococcus*, *Leptolyngbya* и *Phormidium*, которые обладают слизистыми оболочками, способствующими защите клеток от меняющихся климатических условий, и формируют биопленки и маты в морском прибрежье (Komárek, Anagnostidis, 1998, 2005; Ecology of cyanobacteria ..., 2012; Komárek, 2013; Cyanobacteria ..., 2019). Лишенные слизистых чехлов цианобактерии рода *Pseudanabaena* также занимали высокое положение в сообществе Кольского залива. Предположительно, они обладают метаболической устойчивостью к низким температурам и являются психротрофами, что было показано для штаммов полярных *Pseudanabaena* при молекулярно-генетических исследованиях (Christmas et al., 2015) и культивировании при разной температуре (4, 15 и 25°C) (Khan et al., 2017). В каждом из изученных районов отмечено от трех до шести видов цианобактерий рода *Leptolyngbya*. В районах I и III у западного берега залива в большом количестве встречались гетероцистные азотфиксирующие цианобактерии рода *Calothrix*. Наибольшая представленность родов видами выявлена в сообществе цианобактерий южного колена залива (район I). В среднем колене (район IV) данный показатель был ниже. Количество родов в семействах цианобактерий на западном берегу за-

лива (районы I и III) было выше, чем на более урбанизированном восточном берегу (районы II и IV).

Доля видов цианобактерий с наибольшей встречаемостью в сообществах различалась в зависимости от района исследования. Так, для эпифитных *Heteroleibleinia epiphytica* и *Leibleinia epiphytica* она варьировала от 22% в районе III до 50% в районе IV. В этих районах хорошо развито сообщество фукоидов. Дефицит соединений азота на каменистой литорали западного берега залива, выявленный в результате гидрохимических исследований (Мирошниченко, 2016), может восполняться благодаря азотфиксирующей активности гетероцистных видов *Rivularia nitida* и *Nostoc cf. minutissimum*, а также шести видов рода *Calothrix*, среди которых ведущим был *C. scopulorum* с максимальной встречаемостью в районе I ( $P = 18\%$ ). Данный вид широко распространен в прибрежье морей и океанов (Komárek, 2013) и еще в конце XIX в. был указан для экосистемы Баренцева моря в районе о-ва Новая Земля и о-ва Вайгач (Elfvig, 1895). Встречаемость в Кольском заливе еще одного широко распространенного вида *Gloeo-capsopsis crepidinum*, найденного ранее также на юго-восточном берегу Баренцева моря (Белякова, 2005) и в прибрежье Белого моря (Белякова, 1996; Уланова, 2003), варьировала от 9% в опресненном районе I до 29% в более мористом районе IV.

Цианобактерии на литорали Кольского залива распределены неравномерно. Почти половина состава (48% видов) приурочена к субстратам с выраженной рельефностью поверхности (впадины, трещины и т.д.). Очевидно, здесь существуют специфические условия, защищающие микроорганизмы от воздействия факторов внешней среды. Различия в составе сообществ и снижение видового разнообразия по направлению от нижнего горизонта литорали к супралиторали позволяют предположить, что в последнем случае условия обитания для цианобактерий менее благоприятные. Это подтверждено и литературными данными, показывающими горизонтальное зонирование микробных матов и снижение в них обилия и разнообразия цианобактерий от нижней литорали к верхней (Hoffmann, 1999; Rothrock et al., 2005; Al-Thukair et al., 2007).

Наибольшее сходство видового состава цианобактерий обнаружено в акваториях со сходными условиями среды: в районах южного колена залива, характеризующихся сильно опресненной и загрязненной водой, и у западного берега залива с каменистыми берегами и ярко выраженным поясом фукоидов. Наименьшее значение коэффициента сходства отмечено для акваторий городов Мурманск и Североморск. Вероятно, это связано со специфичностью народнохозяйственной деятельности морских портовых городов, промышленные и бытовые стоки которых могут сти-

мулировать или угнетать развитие разных представителей Cyanobacteria.

Присутствие в бентосном сообществе цианобактерий в большом количестве планктонных и бенто-планктонных видов, а также нахождение пресноводных и морских видов почти в равных долях, по-видимому, закономерно, так как Кольский залив является эстуарной экосистемой, где взаимодействие баренцевоморских водных масс и пресных вод из крупных рек приводит к перестройкам в структуре биоценоза. Ранее при исследовании фитопланктона (Макаревич, 2004; Олейник, 2011) и фитобентоса (Витченко, 2005) Кольского залива был отмечен морской характер альгоценозов со стабильным вкладом пресноводного компонента в их структуру. Это обусловлено проникновением в залив представителей с атлантическими водами и континентальным стоком.

На примере Баренцева, Карского и Азовского морей было показано, что в эстуариях солоноватоводные микроводоросли не достигают большого развития (Макаревич, 2004). Подобное явление было отмечено нами и для цианобактерий. Известная отрицательная корреляция между соленостью воды и численностью цианобактерий эпилитона залива (Луценко, Москвина, 2014) позволяет предположить их пресноводный генезис.

Доминирование в Кольском заливе цианобактерий с бореально-тропически-нотальным, космополитным и бореальным распространением можно связать с поступлением в сообщество отдельных представителей с Северо-Атлантическим течением, несущим теплые воды. При исследовании *Cyanoprokaryota* из Баренцева, Белого и дальневосточных морей было показано, что цианобактерии являются аллохтонным компонентом в морях бореальной зоны, и для них также характерно доминирование космополитных и бореально-тропически-нотальных видов, а также отсутствие арктических и аркто-бореальных видов (Белякова, 2005).

Сезонная динамика количества видов цианобактерий в Кольском заливе с одним зимним минимумом и пиками ранней весной и осенью соответствует установленной ранее картине развития микрофитобентоса южного побережья Баренцева моря (Макаревич, 2012). Первый пик числа видов в марте можно объяснить повышением температуры воды и увеличением инсоляции и, как следствие, активизацией процессов фотосинтеза в сообществах (Макаревич, 2004). Большинство бентосных цианобактерий в высокоширотных водоемах являются психротрофными и способны выдерживать низкие температуры окружающей среды при оптимальном развитии выше 15°C (Tang et al., 1997). Такой адаптационный механизм, обнаруженный у цианобактерий Арктики, обуславливает их успешное развитие в экс-

тремальных условиях полярной климатической зоны при нестабильном и значительном повышении температуры в межсезонье. Осенний максимум числа видов цианобактерий, по-видимому, связан с обогащением вод биогенными элементами после конвективного перемешивания, что согласуется с ранее проведенными количественными исследованиями цианобактерий эпилимниона (Луценко, Москвина, 2014) и микроводорослей Кольского залива (Макаревич, 2004; Витченко, 2005).

В соответствии с оценкой качества вод у западного берега залива по микробиологическим и гидрохимическим анализам, зимой воды южного колена характеризовались как умеренно-загрязненные, а летом как загрязненные; среднего колена — как чистые зимой и умеренно-загрязненные летом (Мирошниченко, 2016). По нашему мнению, сапробиологическая оценка вод Кольского залива только по индикаторным видам цианобактерий не является достоверной, так как, во-первых, среди обнаруженных индикаторов 20 видов (74%) являются пресноводными и могут быть аллохтонным компонентом сообщества, привнесенным в залив из рек. Во-вторых, для большинства морских видов цианобактерий все еще не определена индикаторная значимость.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет 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 ФИЦ ИнБЮМ по теме “Исследование механизмов управления продукционными процессами в биотехнологических комплексах с целью разработки научных основ получения биологически активных веществ и технических продуктов морского генезиса”, № гос. регистрации 121030300149-0.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Выражаю благодарность своему учителю к. б. н. М.И. Москвиной (МГУ им. М.В. Ломоносова, г. Москва), д. б. н. Л.И. Рябушко, а также коллегам (ФИЦ ИнБЮМ РАН, г. Севастополь) и сотрудникам кафедры “Микробиология и биохимия” ФГБОУ ВО “МГТУ” (г. Мурманск) за помощь и ценные советы.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Барина С.С., Белоус Е.П., Царенко П.М.* Альгоиндикация водных объектов Украины: методы и перспективы. Хайфа; Киев: Изд-во университета Хайфы. 2019. 367 с.
- Белякова Р.Н.* Синезеленые водоросли Кандалакшского заповедника // Новости системат. низш. раст. 1996. Т. 31. С. 9–16.
- Белякова Р.Н.* *Cyanophyta* юго-восточной части Баренцева моря // Новости системат. низш. раст. 2002. Т. 36. С. 12–18.
- Белякова Р.Н.* *Cyanoprokaryota* Восточного Мурмана (Баренцево море) // Новости системат. низш. раст. 2005. Т. 38. С. 8–21.
- Белякова Р.Н.* Бентосные *Cyanoprokaryota* арктических морей России (исключая Белое море и западную часть Баренцева моря) // Новости системат. низш. раст. 2006. Т. 40. С. 19–29.
- Бондаренко А.В., Рябушко Л.И., Садогурская С.А.* Микроводоросли бентоса и планктона прибрежной акватории заповедника “Казантипский” (Азовское море, Крым) // Биота и среда заповед. территорий. 2018. № 4. С. 25–48.
- Виноградова О.Н., Брянцева Ю.В.* Таксономическая ревизия *Cyanobacteria/Cyanoprokaryota* черноморского побережья Украины // Альгология. 2017. Т. 27. № 4. С. 436–457.
- Витченко Т.В.* Структурно-продукционные характеристики микрофитобентоса литоральной зоны Восточного Мурмана: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М.: ВНИРО. 2005. 25 с.
- Еленкин А.А.* Предварительный отчет о командировке на Мурманскую биологическую станцию летом 1906 г. // Тр. С.-Петербург. о-ва естествоиспыт. 1906. Т. 37. Вып. 1. С. 1–11.
- Зернов С.А.* Общая гидробиология. М.; Л.: Изд-во АН СССР. 1949. 587 с.
- Зинова Е.С.* Водоросли Мурмана. Ч. I. Введение. Зеленые и красные водоросли // Тр. Император. С.-Петербург. о-ва естествоиспыт. 1912. Т. 43. Вып. 2. 343 с.
- Луценко Е.С., Москвина М.И.* Годовая динамика численности и биомассы цианобактерий эпилимниона литорали Кольского залива (Баренцево море) // Рыб. хоз-во. 2014. № 1. С. 53–58.
- Луценко Е.С., Шальгин С.С., Давыдов Д.А.* Перифитонные цианобактерии литорали Кольского залива Баренцева моря // Вестн. Мурман. гос. тех. ун-та. 2013. Т. 16. № 3. С. 472–477.
- Макаревич П.Р.* Структура и функционирование планктонных альгоценозов эстуарных экосистем шельфовых морей: Дис. ... докт. биол. наук. Мурманск: ММБИ КНЦ РАН. 2004. 345 с.
- Макаревич П.Р.* Первичная продукция Баренцева моря // Вестн. Мурман. гос. техн. ун-та. 2012. Т. 15. № 4. С. 786–793.
- Мирошниченко Е.С.* Бактериоценозы эпилимниона литорали южного и среднего колен Кольского залива Баренцева моря: Дис. ... канд. биол. наук. Мурманск. 2016. 176 с.
- Мирошниченко Е.С., Москвина М.И.* Экологическая характеристика цианобактериального перифитона

- литорали Кольского залива Баренцева моря // Вестн. Северного (Арктического) фед. ун-та. Серия: Естественные науки. 2016. № 3. С. 59–71.
- Олейник А.А. Фитопланктон Кольского залива: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Мурманск. 2011. 23 с.
- Пуговкин Д.В., Ляймер А.В., Йенсен Дж.Б. Эпифитные бактериальные сообщества водорослей *Fucus vesiculosus* в разных по степени загрязнения нефтепродуктами акваториях Баренцева моря // Докл. РАН. 2016. Т. 471. № 3. С. 371–373.
- Рябушко Л.И. Микрофитобентос Черного моря. Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика. 2013. 416 с.
- Уланова А.А. Водоросли водоемов с нестабильной соленостью побережий Белого и Баренцева морей: Дис. ... канд. биол. наук. СПб. 2003. 250 с.
- Al-Thukair A.A., Abed R.M.M., Mohamed L. Microbial community of cyanobacteria mats in the intertidal zone of oil-polluted coast of Saudi Arabia // Mar. Pollut. Bull. 2007. V. 54. № 2. P. 173–179. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2006.08.043>
- Chrismas N.A.M., Anesio A.M., Sánchez-Baracaldo P. Multiple adaptations to polar and alpine environments within cyanobacteria: a phylogenomic and Bayesian approach // Front. Microbiol. 2015. V. 6. № 1070. P. 1–10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01070>
- Cyanobacteria: From Basic Science to Applications / Mishra A.K., Tiwari D.N., and Rai A.N., Eds., London: Academic, Elsevier, 2019. <https://doi.org/10.1016/C2017-0-01395-2>
- Ecology of Cyanobacteria II: Their Diversity in Space and Time / Whitton B.A., Ed. Berlin Heidelberg: Springer Science + Business Media B.V. 2012. 760 p.
- Elfvig F. Anteckningar om Finlands Nostochaceae heterocysteeae // Meddelanden af Societas pro Fauna et Flora Fennica. 1895. issue 21. P. 25–50.
- Guiry M.D., Guiry G.M. AlgaeBase. World-Wide Electronic Publication, National University of Ireland, Galway. 2020. <https://www.algaebase.org>
- Hoffmann L. Marine cyanobacteria in tropical regions: diversity and ecology // Eur. J. Phycol. 1999. V. 34. P. 371–379. <https://doi.org/10.1080/09670269910001736432>
- Khan Z., Wan Omar W.M., Merican F.M.M.S. et al. Identification and phenotypic plasticity of *Pseudanabaena catenata* from the Svalbard archipelago // Pol. Polar. Res. 2017. V. 384. P. 445–458. <https://doi.org/10.1515/popore-2017-0022>
- Kjellmann F.R. The algae of the Arctic Sea: A survey of the species, together with an exposition of the general characters and the development of the flora // Kongl. Svenska Vetenskaps-Academiens Handlingar. 1883. V. 20. № 5. 350 p.
- Komárek J., Anagnostidis K. Cyanoprokaryota, 1 Teil: Chroococcales, in Süßwasserflora von Mitteleuropa. V. 19/1. Heidelberg, Berlin: Spektrum Akademischer Verlag. 1999.
- Komárek J., Anagnostidis K. Cyanoprokaryota, 2. Teil: Oscillatoriales, in Süßwasserflora von Mitteleuropa. V. 19/2. München: Elsevier GmbH. 2005.
- Komárek J. Cyanoprokaryota, 3. Teil: Heterocytous genera, in Süßwasserflora von Mitteleuropa. V. 19/3. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag. 2013. <https://doi.org/10.1007/978-3-8274-2737-3>
- Rothrock Jr., Michael J., Garcia-Pichel F. Microbial diversity of benthic mats along a tidal desiccation gradient // Environ. Microbiol. 2005. V. 7. № 4. P. 593–601. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2005.00728.x>
- Tang E.P.Y., Tremblay R., Vincent W.F. Cyanobacterial dominance of polar freshwater ecosystems: are high-latitude mat-formers adapted to low temperature? // J. Phycol. 1997. V. 33. P. 171–181.

## Cyanobacteria of the Intertidal Zone of the Kola Bay of the Barents Sea: Species Composition and Ecology

E. S. Miroshnichenko

A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas, Russian Academy of Sciences, Sevastopol 299011, Russia

The article presents the results of studies of the cyanobacteria from foulings of natural and anthropogenic substrates of the intertidal zone of the Kola Bay of the Barents Sea for the period from 2010 to 2019. Ninety-five cyanobacterial species from 46 genera, 20 families, and 6 orders were found; 22 species are given for the first time for the Barents Sea. A majority of cyanobacterial taxa belong to benthic species (70%), living mainly on natural substrates. The species abundance decreases from the lower intertidal zone to the supralittoral. The proportion of planktonic and bento-planktonic species was 12 and 18%, respectively. Freshwater (44%), marine (37%), brackish-water (3%), and euryhaline (16%) species have been found in the intertidal zone of the bay. The study has revealed 27 indicator species; most of them were oligo- and oligo-betamezosaprobionts. The cyanobacteria of the Kola Bay were predominantly boreal-tropical-notal (26%), cosmopolitan (23%), and boreal (18%) species. Peaks of the number of species were recorded in the early spring (March) and autumn (October). Areas with increased anthropogenic pressure from seaport cities showed the lowest index of species similarity.

**Keywords:** Cyanobacteria, intertidal zone, species composition, ecological groups, phytogeography, Kola Bay of the Barents Sea

УДК 597.556.331.1:591.111:577.15

## АКТИВНОСТЬ КАТАЛАЗЫ И СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ В ЭРИТРОЦИТАХ И УРОВЕНЬ МЕТГЕМОГЛОБИНА В КРОВИ МОРСКОГО ЕРША *SCORPAENA PORCUS LINNAEUS*, 1758 В УСЛОВИЯХ ОСТРОЙ ГИПОКСИИ

© 2021 г. А. А. Солдатов<sup>1,2,\*</sup>, Т. И. Андреенко<sup>1,2</sup>, Т. А. Кухарева<sup>1</sup>,  
А. Ю. Андреева<sup>1</sup>, Е. С. Кладченко<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биологии южных морей им. А. О. Ковалевского РАН, Севастополь 299011, Россия

<sup>2</sup>Севастопольский государственный университет, Севастополь 299053, Россия

\*e-mail: alekssoldatov@yandex.ru

Поступила в редакцию 16.06.2020 г.

После доработки 12.10.2020 г.

Принята к публикации 15.02.2021 г.

В условиях эксперимента *in vivo* исследовали влияние острой гипоксии на уровень метгемоглобина (MtHb) в крови, а также на активность каталазы (CAT) и супероксиддисмутазы (SOD) в эритроцитах морского ерша *Scorpaena porcus* Linnaeus, 1758. Содержание O<sub>2</sub> в воде снижали прокачиванием N<sub>2</sub> в течение 1.5–2.0 ч с 8.5–8.7 мгO<sub>2</sub>/л до требуемых значений. Анализировали диапазон концентраций 0.35–8.50 мгO<sub>2</sub>/л. Экспозиция составляла 4 ч при температуре воды 14–16°C. Показано, что при концентрации кислорода в воде менее 2 мгO<sub>2</sub>/л часть гемоглобина переходила в ферри-форму. Эффект был наиболее выражен при острых формах гипоксии (менее 1 мгO<sub>2</sub>/л). Максимальный прирост уровня MtHb составлял 19% от общего содержания пигмента в крови. Это коррелировало с существенным увеличением активности SOD и CAT в эритроцитах (коэффициент детерминации превышал 0.750) и отражало усиление процесса дисмутации супероксиданион радикала в клетках красной крови.

**Ключевые слова:** гипоксия, метгемоглобин, каталаза, супероксиддисмутаза, эритроциты, кровь, рыбы

**DOI:** 10.31857/S0134347521040124

Низкая скорость диффузии кислорода в воде и ограничение процессов водообмена являются основными причинами формирования устойчивых во времени зон острой гипоксии (oxygen-minimum zones, или OMZ) в ряде акваторий шельфа Мирового океана (Jouse, 2000; Middelburg, Levin, 2009; Gewin, 2010). Концентрация кислорода в OMZ обычно не превышает 0.5 мгO<sub>2</sub>/л (норма 7–8 мгO<sub>2</sub>/л). Особый интерес представляют морские организмы, значительная часть жизненного цикла которых протекает в этих условиях (Stoeck et al., 2003; El Albani et al., 2010; Danovaro et al., 2010).

При изучении толерантных к гипоксии форм жизни основное внимание исследователей сосредоточено на изучении биоэнергетических процессов, которые существенно перестраиваются. Отмечено повышение содержания в тканях аланина и сукцината (Van Waarde, 1988) на фоне увеличения продукции NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (Chew et al., 2005). Одновременно повышалась активность аланин- и аспаратаминотрансфераз, а также активизиру-

вались процессы переаминирования аминокислот (Mommensen et al., 1980; Soldatov et al., 2009). Ферментативные системы цикла Кребса были задействованы в анаэробных процессах генерации энергии (Van Waarde, 1988), а дыхательная цепь митохондрий приобретала нескомпенсированный тип организации (Савина, 1992).

Определенные закономерности выявлены и на уровне клеток красной крови. Так, эритроциты толерантных к гипоксии рыб в условиях дефицита кислорода способны к сбалансированному угнетению мембранных и метаболических функций (Soldatov et al., 2014), при этом повышается их деформируемость (Chiocchia, Motais, 1989). В ряде работ отмечено увеличение клеточного объема (swelling) (Jensen, 2004; Wells, 2009). Процесс контролируется катехоламинами (Perry et al., 1999), взаимодействующими с поверхностными β-адренорецепторами эритроцитов (Jahns et al., 1996), которые активизируют Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> и HCO<sub>3</sub>/Cl<sup>-</sup> антипорты клеток (Wood, Simmons, 1994; Jensen, 2004).

Наряду с изменениями метаболизма и реакциями клеточных систем выявлено несколько парадоксальных событий. В условиях гипоксии, когда окислительная нагрузка снижена, наблюдался значительный рост активности каталазы (CAT) и супероксиддисмутазы (SOD) (Lushchak, Vagnuykova, 2006; Stara et al., 2012), отмечено также повышение содержания метгемоглобина (MtHb) в крови (Affonso et al., 2002; Chen et al., 2017). Поскольку большинство гидробионтов перманентно сталкиваются с условиями гипоксии, предложено рассматривать увеличение активности CAT и SOD как подготовку к последующему окислительному стрессу (Lushchak, Vagnuykova, 2006). Второе событие – увеличение содержания MtHb пока не находит достойного объяснения, при этом оно отмечено не только у рыб (Affonso et al., 2002; Chen et al., 2017), но и у высших позвоночных (Olander, Parr, 1977), в том числе у человека (Arnaud et al., 1979). Показано, что частично деоксигенированный гемоглобин легче подвергается окислению и переходит в мет-форму (Mansouri, 1981). Мы предполагаем, что данные процессы взаимосвязаны, так как увеличение содержания MtHb сопровождается освобождением супероксиданионрадикала ( $\text{O}_2^-$ ), который последовательно нейтрализуется в реакции дисмутации при участии SOD и CAT.

В связи с этим цель настоящей работы – в условиях эксперимента *in vivo* исследовать влияние ранжированной гипоксии на уровень MtHb в крови и на активность CAT и SOD в эритроцитах толерантного к гипоксии морского ерша *Scorpaena porcus* Linnaeus, 1758.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Работа выполнена на взрослых особях морского ерша *Scorpaena porcus* в состоянии относительного физиологического покоя (III–IV стадия зрелости гонад): длина тела – 14–19 см, масса тела – 124–182 г. Данный вид отличается повышенной устойчивостью к гипоксии. Среди представителей донной ихтиофауны черноморского региона для него характерны наиболее низкие критические и пороговые концентрации кислорода (Парфенова, 2004). Рыб отлавливали ставным неводом и в течение 3 ч доставляли в лабораторию в пластиковых баках объемом 60 л с использованием принудительной аэрации, затем рассаживали в аквариумы с естественным протоком. В этих условиях морских ершей выдерживали в течение 1 нед. для снятия стресса; кормили фаршем из молоченных видов рыб. Суточный пищевой рацион рыб составлял 6–7% от массы тела. В работе использовали только подвижных активно питающихся рыб; при их отлове из аквариума применяли уретановый наркоз (Soldatov, 2005).

Экспериментальная часть работы выполнена с использованием специально разработанного экспериментального стенда, который позволяет поддерживать требуемые концентрацию  $\text{O}_2$  в воде и температуру в течение неограниченного периода времени. Температура в рабочей камере (объем 13.5 л) составляла 14–16°C. В камере находилась одна особь морского ерша. Фотопериод: 12 ч день – 12 ч ночь. После адаптации к этим условиям (1 сут) содержание  $\text{O}_2$  в воде снижали прокачиванием  $\text{N}_2$  в течение 1.5–2.0 ч с 8.5–8.7 мг $\text{O}_2$ /л до требуемых значений. Исследовали диапазон концентраций 0.35–8.50 мг $\text{O}_2$ /л. Постоянство заданной концентрации  $\text{O}_2$  в воде обеспечивалось воздушной аэрацией. Экспозиция составляла 4 ч. Содержание  $\text{O}_2$  контролировали оксиметром DO Meter ST300D RU (“Ohaus”, USA).

Кровь брали шприцем (2 мл) из хвостовой артерии. В качестве антикоагулянта применяли гепарин (“Рихтер”, Венгрия). Образцы помещали в пластиковую пробирку под слой вазелинового масла, что исключало контакт с воздухом.

Концентрацию MtHb в полученных образцах крови определяли спектрофотометрически по методике Н. Evelyn и Н. Malloy в модификации М.С. Кушаковского (с применением ацетонциангидрина) (см.: Кушаковский, 1970).

При определении активности CAT и SOD клетки крови предварительно осаждали центрифугированием (800 g, 15 мин, центрифуга Elmi CM-50). Плазму и поверхностный слой клеток (фракция лейкоцитов) удаляли. Эритроциты трижды отмывали от плазмы в среде следующего состава: 128 мМ NaCl, 3 мМ KCl, 1.5 мМ CaCl<sub>2</sub>, 1.5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 15 мМ трис и 2.2 мМ D-глюкозы (pH 7.8) (Tiihonen, Nikinmaa, 1991), используя эти же режимы центрифугирования. Концентрацию  $\text{O}_2$  в инкубационной среде поддерживали на уровне экспериментальных значений (барботаж  $\text{N}_2$ ), контролировали оксиметром DO Meter ST300D RU (“Ohaus”, USA). Полученную клеточную массу лизировали охлажденным дистиллятом. Строму разрушенных клеток осаждали центрифугированием (15294 g, 15 мин, Elmi CM-50). В полученных гемолизатах определяли активность CAT и SOD.

Активность SOD (КФ 1.15.1.1) определяли по степени ингибирования восстановления нитросинего тетразолия в присутствии  $\text{NAD} \cdot \text{H}_2$  и фенозинметасульфата (Переслегина, 1989). Активность CAT (КФ 1.11.1.6) определяли по реакции  $\text{H}_2\text{O}_2$  с молибдатом аммония и по образованию желтоокрашенного комплекса (Гирич, 1999). Содержание белка в пробе контролировали с помощью метода Лоури (Lowry et al., 1951). Более детально процедура определения активности CAT и SOD в тканях морских организмов описана ранее

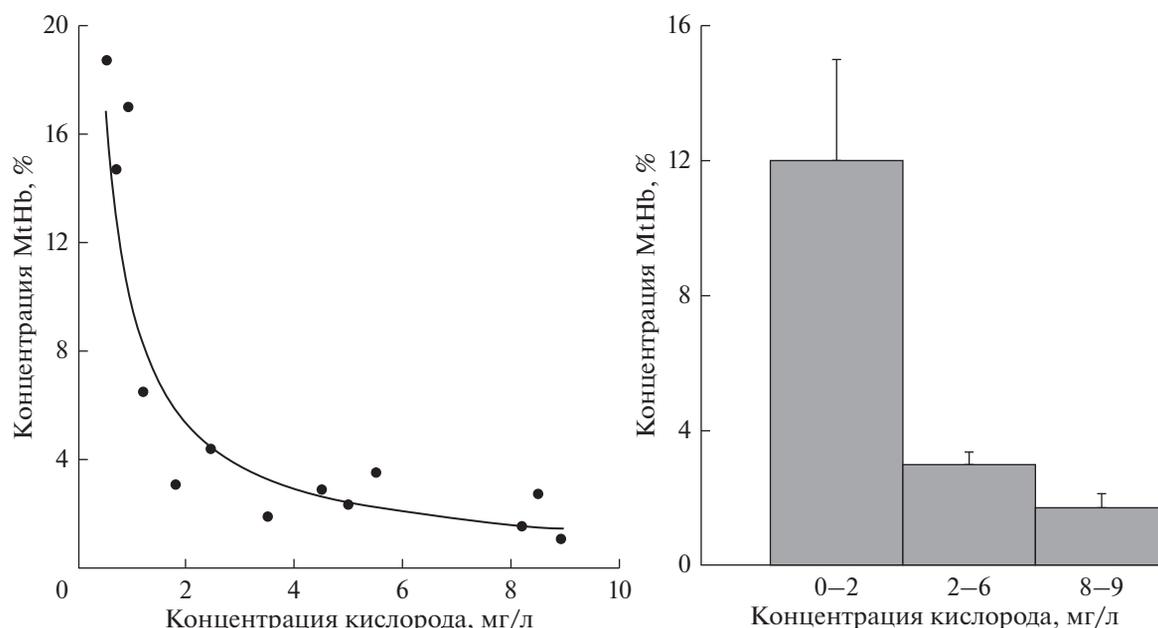


Рис. 1. Концентрация метгемоглобина (MtHb) в крови морского ерша при адаптации к среде с разной концентрацией кислорода ( $R^2 = 0.849$  для системы “MtHb–O<sub>2</sub>”).

(Солдатов и др., 2008). Все измерения проведены на спектрофотометре PerkinElmer Lambda 35 (USA).

Статистическая обработка и графическое оформление полученных результатов выполнены с применением стандартного пакета, программа Grapher 7 (Golden Software, USA). Результаты представлены в виде  $M \pm m$ . Достоверность различий между выборочными совокупностями оценивали при помощи непараметрического критерия Манна–Уитни. В работе использовано 22 экз. морского ерша.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### Концентрация метгемоглобина в крови

В условиях нормоксии (8.5–8.7 мгO<sub>2</sub>/л) уровень MtHb не превышал 4% от общего содержания гемоглобина в крови морского ерша (рис. 1). Понижение концентрации O<sub>2</sub> в воде в диапазоне 2.0–8.7 мгO<sub>2</sub>/л значимо не влияло на содержание ферри-формы в крови рыб. Фактически оно оставалось на уровне контрольных значений (нормоксия). Имеющиеся различия были статистически незначимы. Однако при более низких концентрациях O<sub>2</sub> (менее 2.0 мгO<sub>2</sub>/л) отмечено существенное повышение уровня окисленного пигмента в крови морского ерша. По сравнению с условиями нормоксии различие составило около 6 раз ( $p < 0.001$ ). Основное увеличение отмечено при концентрациях O<sub>2</sub> менее 1.0 мгO<sub>2</sub>/л. У отдельных особей уровень мет-формы достигал 19% от общей концентрации гемоглобина в крови. Зави-

симость хорошо аппроксимировалась уравнением степенной функции ( $R^2 = 0.849$ ).

### Активность SOD и CAT в эритроцитах

Изменение активности СОД и КАТ в целом совпадало с отмеченным ранее для MtHb (рис. 2). При концентрации O<sub>2</sub> в воде менее 2.0 мгO<sub>2</sub>/л активность обоих ферментов существенно повышалась. По сравнению с результатами, полученными для условий нормоксии, она была в 5.0–5.5 и 2.0–2.5 раза выше ( $p < 0.001$ ) соответственно для САТ и СОД. При этом более выраженную связь отмечали между активностью СОД и концентрацией O<sub>2</sub> в воде. Об этом свидетельствовали сравнительно более высокие значения коэффициента детерминации – 0.707 и 0.589 соответственно. Увеличение активности СОД наблюдали уже при концентрации O<sub>2</sub> в воде 2–6 мгO<sub>2</sub>/л. Различия с условиями нормоксии составляли почти 50%, но не были статистически значимы.

### Корреляционные отношения

Анализ корреляционных отношений для систем “SOD–MtHb”, “CAT–MtHb” и “SOD–CAT” показал (рис. 3), что между содержанием ферри-формы гемоглобина в крови и активностью СОД и САТ существует выраженная связь. Коэффициент детерминации составлял соответственно 0.776 и 0.817. Связь в системе “SOD–CAT” была менее выражена ( $R^2 = 0.480$ ).

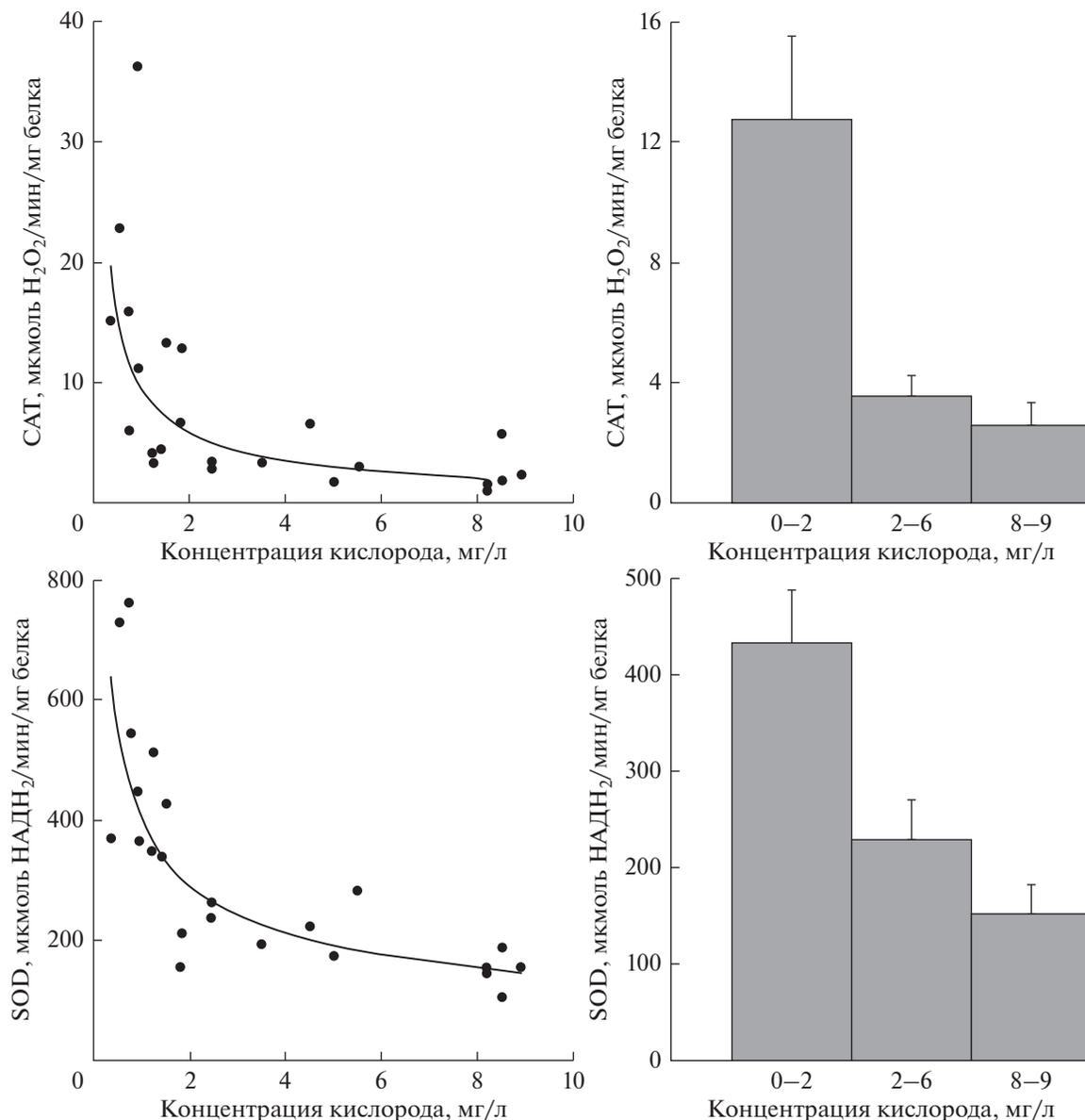


Рис. 2. Активность CAT и SOD в эритроцитах морского ерша при адаптации к среде с разной концентрацией кислорода ( $R^2 = 0.589$  для системы “CAT–O<sub>2</sub>”;  $R^2 = 0.707$  для системы “SOD–O<sub>2</sub>”).

ОБСУЖДЕНИЕ

Из представленной информации необходимо обратить внимание на следующие моменты: в условиях острой гипоксии (менее 1.0 мгO<sub>2</sub>/л) часть гемоглобина переходит в окисленное состояние (ферри-форму); одновременно повышается активность SOD и CAT в эритроцитах; между содержанием MtHb в крови и активностью SOD и CAT существует выраженная связь.

*Концентрация метгемоглобина в крови*

Переход гемоглобина в мет-форму при гипоксии был показан для многих групп организмов,

включая рыб (Olander, Parr, 1977; Arnaud et al., 1979; Affonso et al., 2002; Chen et al., 2017). Это может быть обусловлено тем, что в условиях острой гипоксии существенно увеличивается доля дезоксигенированного гемоглобина, который легче подвергается окислению (Mansouri, 1981). Его ферро-ион находится в высокоспиновом состоянии (4 неспаренных электрона), что облегчает отрыв электрона от железа (автоокисление). В данном случае кислород венозной крови может выполнять роль акцептора электрона, что должно приводить к образованию  $\cdot\text{O}_2^-$ . Это наиболее вероятный процесс, объясняющий увеличение содержания MtHb в крови в условиях острой гипоксии.

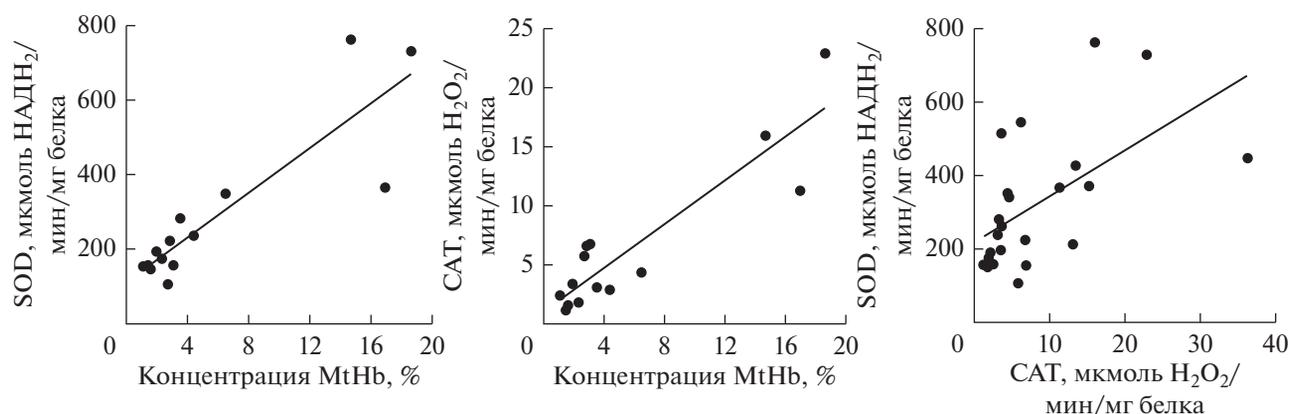
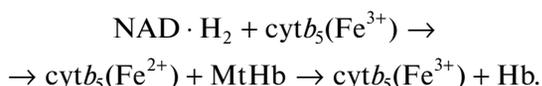


Рис. 3. Корреляционные отношения для систем “SOD–MtHb” ( $R^2 = 0.769$ ), “CAT–MtHb” ( $R^2 = 0.817$ ) и “SOD–CAT” ( $R^2 = 0.480$ ).

Ядерные эритроциты рыб в отличие от таких высших позвоночных содержат митохондрии (Boutillier, Ferguson, 1989; Phillips et al., 2000). В митохондриях сравнительно активно протекают аэробные процессы ресинтеза АТФ. В условиях острой гипоксии они должны подавляться на фоне повышения роли реакций гликолиза. Последнее должно приводить к снижению внутриклеточного рН и возникновению дефицита  $\text{NAD} \cdot \text{H}_2$ . Известно, что роль специфического переносчика электрона с  $\text{NAD} \cdot \text{H}_2$  на цитохром  $b_5$ , а затем на MtHb в эритроцитах выполняет  $\text{NAD} \cdot \text{H}_2$ -диафораза (Percy, Lappin, 2008):



За кислению внутриэритроцитарной среды и возникновение дефицита  $\text{NAD} \cdot \text{H}_2$  должно приводить к снижению активности фермента и к увеличению содержания MtHb и  $\cdot\text{O}_2^-$  в крови. Это тоже может быть вероятным процессом, объясняющим рост содержания ферри-формы гемоглобина в крови рыб в условиях внешней гипоксии. В настоящее время обнаружен факт закисления внутриклеточной среды эритроцита при дефиците кислорода (Adragna et al., 2004). Установлено также, что при снижении рН усиливаются процессы автоокисления гемоглобина (Wallace et al., 1982; Adragna et al., 2004).

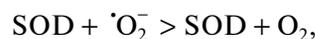
Закисление внутриэритроцитарной среды в условиях острой гипоксии активизирует работу  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -антипорта и сопровождается поступлением  $\text{Na}^+$  в клетку (Tufts, 1992). Это приводит к гидратации цитоплазмы и росту ее диэлектрической проницаемости, что должно способствовать проникновению воды в гидрофобную полость гемоглобина (White et al., 1978). Вода обычно встраивается на уровне имидазольной группы His, вы-

зывая окисление преимущественно дезокси-формы пигмента. Это должно приводить к освобождению  $\cdot\text{O}_2^-$ .

Какой из вышеприведенных механизмов определяет рост содержания MtHb в крови в условиях острой гипоксии, сказать сложно. Скорее всего, они протекают одновременно, учитывая их взаимозависимость. Необходимо отметить, что в ряде исследований гипоксия не сопровождалась ростом уровня MtHb в крови (Cameron, 1971; Soldatov, Parfenova, 2001). Это объясняется тем, что были исследованы умеренные формы гипоксии (более 2.5  $\text{mgO}_2/\text{л}$ ), которые и в нашем случае были малоэффективны.

#### Активность SOD и CAT в эритроцитах

Активность SOD и CAT существенно повышалась в условиях острой гипоксии (менее 1.0  $\text{mgO}_2/\text{л}$ ) и хорошо коррелировала с уровнем MtHb в крови рыб. Значения  $R^2$  превышали 0.750. Переход гемоглобина из ферро- в ферри-форму сопряжен с продукцией супероксиданион радикала ( $\cdot\text{O}_2^-$ ). Его нейтрализация должна осуществляться в реакции дисмутации, в которой принимают участие оба фермента. Вначале SOD переводит  $\cdot\text{O}_2^-$  в два этапа в  $\text{H}_2\text{O}_2$ :



а затем образующаяся  $\text{H}_2\text{O}_2$  нейтрализуется CAT:  $2\text{H}_2\text{O}_2 > 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$ .

Эта реакция была отмечена для различных соматических тканей рыб, включая эритроциты крови (Lushchak, Vagnyukova, 2006; Stara et al., 2012).

Известно, что данные ферменты не всегда могут функционировать совместно, т.е. определять реакцию дисмутации (Soldatov et al., 2014). CAT способна самостоятельно нейтрализовать гидроперекиси, а SOD может участвовать в прооксидантных процессах. В нашем случае мы допускаем, что данные ферменты в эритроцитах функционируют все же по схеме реакции дисмутации, так как связь между ними существует:  $R^2$  был равен 0.480, что соответствует коэффициенту корреляции 0.693.

Изменения, происходящие в крови морского ерша, связаны с определенными функциональными следствиями, позволяющими данному виду существовать в условиях острой гипоксии. Переход гемоглобина в мет-форму способствует деоксигенации венозной крови, насыщенной на 40–60% кислородом. Процесс не требует снижения тканевого  $PO_2$ , что особенно актуально в условиях гипоксии. В наших экспериментах увеличение уровня метгемоглобина в крови наблюдалось при концентрации кислорода в инкубационной среде менее 2 мг $O_2$ /л и становилось еще более заметным при его содержании 0–1 мг $O_2$ /л, что соответствует венозному насыщению кислорода. Данная реакция должна способствовать поддержанию окислительных процессов в тканях в условиях дефицита кислорода.

Таким образом, при концентрации кислорода в воде менее 2 мг $O_2$ /л часть гемоглобина переходила в ферри-форму. Эффект был наиболее выражен при острых формах гипоксии (менее 1 мг $O_2$ /л). Максимальный прирост уровня MtHb составлял 19% от общего содержания пигмента в крови. Это коррелировало с существенным ростом активности SOD и CAT в эритроцитах ( $R^2$  превышал 0.750). Последнее отражало усиление процесса дисмутации  $\cdot O_2^-$ .

#### 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.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственной программы АААА-А18-118021490093-4 и при частичной поддержке проекта РФФИ 20-04-00037.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Гурин С.В. Модификация метода определения активности каталазы в биологических субстратах // Лаб. диагностика. 1999. № 4. С. 45–46.
- Кушаковский М.С. Метгемоглобинемии. Справочник по функциональной диагностике. М.: Медицина. 1970. С. 423–427.
- Парфенова И.А. Критические и пороговые напряжения кислорода у морских рыб различной толерантности к внешней гипоксии // VII Міжн. науково-практ. конф. студентів, аспірантів та молодих вчених “Екологія. Людина. Суспільство”. Київ (Україна). 13–15 травня 2004 р. С. 53.
- Перслегина И.А. Активность антиоксидантных ферментов слюны здоровых детей // Лаб. дело. 1989. № 11. С. 20–23.
- Савина М.В. Механизмы адаптации тканевого дыхания в эволюции позвоночных. М.: Наука. 1992. 200 с.
- Солдатов А.А., Гостюхина О.Л., Головина И.В. Состояние антиоксидантного ферментативного комплекса тканей черноморского моллюска *Mytilus gallorvincialis* Lam. в условиях естественного окислительного стресса // Журн. эвол. биохим. и физиол. 2008. Т. 44. № 2. С. 150–155.
- Adragna N.C., Di Fulvio M., Lauf P.K. Regulation of K-Cl cotransport: from function to genes // J. Membr. Biol. 2004. V. 201. P. 109–137.
- Affonso E.G., Polez V.L.P., Corrêa C.F. et al. Blood parameters and metabolites in the teleost fish *Colossoma macropomum* exposed to sulfide or hypoxia // Comp. Biochem. Physiol., Part C: Toxicol. Pharmacol. 2002. V. 133. Iss. 3. P. 375–382.
- Arnaud J., Quilici J.C., Gutierrez N. et al. Methaemoglobin and erythrocyte reducing systems in high-altitude natives // Ann. Hum. Biol. 1979. V. 6. Iss. 6. P. 585–592.
- Boutillier R.G., Ferguson R.A. Nucleated red cell function: metabolism and pH regulation // Can. J. Zool. 1989. V. 67. P. 2986–2993.
- Cameron J.N. Methemoglobin in erythrocytes of rainbow trout // Comp. Biochem. Physiol., Part A: Physiol. 1971. V. 40. P. 743–749.
- Chen N., Wu M., Tang G-P. et al. Effects of acute hypoxia and reoxygenation on physiological and immune responses and redox balance of Wuchang bream (*Megalobrama amblycephala* Yih, 1955) // Front. Physiol. 2017. V. 8. Art. ID 375. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00375>
- Chew S.F., Gan J., Ip Y.K. Nitrogen metabolism and excretion in the swamp eel, *Monopterus albus*, during 6 or 40 days of estivation in mud // Physiol. Biochem. Zool. 2005. V. 78. Iss. 4. P. 620–629.
- Danovaro R., Dell’Anno A., Pusceddu A. et al. The first metazoa living in permanently anoxic conditions // BMC Biol. 2010. V. 8. Iss. 1. Art. ID 30. <https://doi.org/10.1186/1741-7007-8-30>
- El Albani A., Bengtson S., Canfield D.E. et al. Large colonial organisms with coordinated growth in oxygenated environments 2.1 Gyr ago // Nature. 2010. V. 466. P. 100–104.

- Gewin V. Oceanography: Dead in the water // Nature. 2010. V. 466. P. 812–814.
- Chiocchia G., Motais R. Effect of catecholamines on deformability of red cells from trout: relative roles of cyclic AMP and cell volume // J. Physiol. 1989. V. 412. Iss. 1. P. 321–332.
- Jahns R., Borgese F., Lindenthal S. et al. Trout red blood cell arrestin (TRCarr), a novel member of the arrestin family: cloning, immunoprecipitation and expression of recombinant TRCarr // Biochem. J. 1996. V. 316. № 2. P. 497–506.
- Jensen F.B. Red blood cell pH, the Bohr effect, and other oxygenation-linked phenomena in blood O<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> transport // Acta Physiol. Scand. 2004. V. 182. Iss. 3. P. 215–227.
- Joyce S. The dead zones: oxygen-starved coastal waters // Environ. Health Perspect. 2000. V. 108. Iss. 3. P. A120–A125.
- Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. 1951. V. 193. Iss. 1. P. 265–275.
- Lushchak V.I., Bagnyukova T.V. Effects of different environmental oxygen levels on free radical processes in fish // Comp. Biochem. Physiol., Part B: Biochem. Mol. Biol. 2006. V. 144. P. 283–289.
- Mansouri A. Methemoglobin formation and reduction in relation to hemoglobin oxygen affinity // Experientia. 1981. V. 37. P. 95–96.
- Middelburg J.J., Levin L.A. Coastal hypoxia and sediment biogeochemistry // Biogeosciences. 2009. V. 6. P. 1273–1293.
- Mommsen T.P., French C.J., Hochachka P.W. Sites and patterns of protein and amino acid utilization during the spawning migration of salmon // Can. J. Zool. 1980. V. 58. Iss. 10. P. 1785–1799.
- Olander C.P., Parr C.E. Jr. Methemoglobin in hypoxic rats // Experientia. 1977. V. 33. P. 1656–1657.
- Perry S.F., Montpetit C.J., Julio A.E., Moore K. The influence of chronic anaemia on catecholamine secretion in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // J. Comp. Physiol., B. 1999. V. 169. P. 335–343.
- Percy M.J., Lappin T.R. Recessive congenital methaemoglobinemia: cytochrome b<sub>5</sub> reductase deficiency // Br. J. Haematol. 2008. V. 141. P. 298–308.
- Phillips M.C., Moyes C.D., Tufts B.L. The effects of cell ageing on metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) red blood cells // J. Exp. Biol. 2000. V. 203. P. 1039–1045.
- Soldatov A.A. Physiological aspects of effects of urethane anesthesia on the organism of marine fishes // Hydrobiol. J. 2005. V. 41. Iss. 1. P. 113–126.
- Soldatov A.A., Andreenko T.I., Sysoeva I.V., Sysoev A.A. Tissue specificity of metabolism in the bivalve mollusc *Anadara inaequalis* Br. under conditions of experimental anoxia // J. Evol. Biochem. Physiol. 2009. V. 45. P. 349–355.
- Soldatov A.A., Andreeva A.Yu., Novitskaya V.N., Parfenova I.A. Coupling of membrane and metabolic functions in nucleated erythrocytes of *Scorpaena porcus* L. under hypoxia *in vivo* and *in vitro* // J. Evol. Biochem. Physiol. 2014. V. 50. P. 409–415.
- Soldatov A.A., Gostyukhina O.L., Golovina I.V. Functional states of antioxidant enzymatic complex of tissues of *Mytilus galloprovincialis* Lam. under conditions of oxidative stress // J. Evol. Biochem. Physiol. 2014. V. 50. P. 206–214.
- Soldatov A.A., Parfenova I.A. The methemoglobin blood level and stability of circulating erythrocytes of the rockfish *Scorpaena porcus* to osmotic shock under conditions of experimental hypoxia // J. Evol. Biochem. Physiol. 2001. V. 37. P. 622–625.
- Stara A., Machova J., Velisek J. Effect of chronic exposure to prometryne on oxidative stress and antioxidant response in early life stages of common carp (*Cyprinus carpio* L.) // Neuroendocrinol. Lett. 2012. V. 33. Suppl 3. P. 130–135.
- Stoeck T., Taylor G.T., Epstein S.S. Novel eukaryotes from the permanently anoxic Cariaco Basin (Caribbean Sea) // Appl. Environ. Microbiol. 2003. V. 69. Iss. 9. P. 5656–5663.
- Tiihonen K., Nikinmaa M. Substrate utilization by carp (*Cyprinus carpio*) erythrocytes // J. Exp. Biol. 1991. V. 161. P. 509–514.
- Tufts B. *In vitro* evidence for sodium-dependent pH regulation in sea lamprey (*Petromyzon marinus*) red blood cells // Can. J. Zool. 1992. V. 70. P. 411–416.
- Van Waarde A. Biochemistry of non-protein nitrogenous compounds in fish including the use of amino acids for anaerobic energy production // Comp. Biochem. Physiol., Part B: Comp. Biochem. 1988. V. 91. Iss. 2. P. 207–228.
- Wallace W.J., Houtchens R.A., Maxwell J.C., Caughey W.S. Mechanism of autooxidation for hemoglobins and myoglobins: Promotion of superoxide production by protons and anions // J. Biol. Chem. 1982. V. 257. P. 4966–4977.
- Wells R.M.G. Blood-gas transport and hemoglobin function: adaptations for functional and environmental hypoxia // In: Hypoxia // Fish Physiology. 2009. London: Academic. V. 27. Ch. 6. P. 255–299.
- White A., Handler Ph., Smith E.L. et al. Principles of biochemistry. 6th ed. New York: McGraw-Hill. 1978. V. 3. 1878 p.
- Wood C.M., Simmons H. The conversion of plasma HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> to CO<sub>2</sub> by rainbow trout red blood cells *in vitro*: adrenergic inhibition and the influence of oxygenation status // Fish Physiol. Biochem. 1994. V. 12. P. 445–454.

## Catalase and Superoxide Dismutase Activity in Erythrocytes and Methemoglobin Level in Blood of Black Scorpionfish *Scorpaena porcus* Linnaeus, 1758 Exposed to Acute Hypoxia

A. A. Soldatov<sup>a, b</sup>, T. I. Andreenko<sup>a, b</sup>, T. A. Kukhareva<sup>a</sup>, A. Yu. Andreeva<sup>a</sup>, and E. S. Kladchenko<sup>a</sup>

<sup>a</sup>A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas, Russian Academy of Sciences, Sevastopol 299011, Russia

<sup>b</sup>Sevastopol State University, Sevastopol 299053, Russia

The effect of exposure to acute hypoxia on the level of methemoglobin (MtHb) in blood and the activity of catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) in erythrocytes of the Black Scorpionfish *Scorpaena porcus* Linnaeus, 1758 was studied in experiments in vivo. The O<sub>2</sub> concentration in the seawater was reduced from 8.5–8.7 mgO<sub>2</sub>/L to the required values by pumping N<sub>2</sub> into the water for 1.5–2.0 h. The concentration range of 0.35–8.50 mgO<sub>2</sub>/L was studied. The exposure lasted for 4 h at a water temperature of 14–16°C. It has been shown that at oxygen concentrations in water less than 2 mgO<sub>2</sub>/L part of hemoglobin passes into the ferric form. The effect was most pronounced in the case of acute hypoxia exposure (less than 1 mgO<sub>2</sub>/L). The maximum increase in the MtHb level was 19% of the total level of the pigment in blood. This correlated with a significant increase in the SOD and CAT activity in erythrocytes (with the coefficient of determination  $R^2$  higher than 0.750). The latter indicated an increase in the dismutation of superoxide anion in red blood cells.

*Keywords:* hypoxia, methemoglobin, catalase, superoxide dismutase, erythrocytes, blood, fish

УДК 577.114.15.593.95

**ВЛИЯНИЕ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ ПРИМЕСЕЙ, СОДЕРЖАЩИХСЯ  
В ОБРАЗЦАХ ФУКОИДАНА ИЗ БУРОЙ ВОДОРΟΣЛИ *FUCUS DISTICHUS*  
SUBSP. *EVANESCENS* (С. AGARDH) Н.Т. POWELL, 1957, НА ЭМБРИОГЕНЕЗ  
МОРСКОГО ЕЖА *STRONGYLOCENTROTUS INTERMEDIUS*  
(А. AGASSIZ, 1864) И ЭМБРИОТОКСИЧЕСКОЕ  
ДЕЙСТВИЕ КУКУМАРИОЗИДА**

© 2021 г. М. И. Киселева<sup>1</sup>, \*, Т. И. Имбс<sup>1</sup>, С. А. Авилов<sup>1</sup>, И. Ю. Бакунина<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН,  
Владивосток 690022, Россия

\*e-mail: mikiseleva@mail.ru

Поступила в редакцию 24.03.2020 г.

После доработки 18.08.2020 г.

Принята к публикации 05.10.2020 г.

На модели развивающихся эмбрионов морского ежа *Strongylocentrotus intermedius* изучено влияние полифенольных примесей на биологическую активность образцов фукоидана из бурой водоросли *Fucus distichus* subsp. *evanescens*. Определена эмбриотоксическая активность фукофлоретола из *F. evanescens* (ИК<sub>50</sub> = 96.90 ± 12.20 мкмоль/л) и тритерпенового гликозида кукумариозида А<sub>7</sub> из кукумари *Cucumaria frondosa* subsp. *japonica* (ИК<sub>50</sub> = 0.39 ± 0.01 мкмоль/л). Показана способность фукоиданов с разным содержанием полифенольных примесей частично или полностью снижать эмбриотоксическую активность тритерпенового гликозида кукумариозида А<sub>7</sub> из *C. japonica*.

**Ключевые слова:** бурые водоросли, эмбрионы, морской еж, *Strongylocentrotus intermedius*, фукоидан, фукофлоретол, флоротаннины, тритерпеновые гликозиды, кукумариозид А<sub>7</sub>

DOI: 10.31857/S0134347521040070

Фукоиданы представляют собой структурно разнообразное семейство сульфатированных, а иногда ацетилированных гомо- и гетерополисахаридов с остатками сульфатированной α-L-фукозы в основной цепи. Источником фукоидана являются преимущественно бурые водоросли. В последнее время фукоиданы стали объектом повышенного внимания и интенсивного исследования (Menshova et al., 2016). Практический интерес к этим полисахаридам можно объяснить их разнообразной биологической активностью и низкой токсичностью (Kusaykin et al., 2008; Luthuli et al., 2019). Многообразие структур фукоиданов является специфичным по отношению к виду водоросли и обусловлено различным соотношением типов O-гликозидных связей между остатками α-L-фукозы, количеством и расположением сульфатных и ацетатных групп, а также природой и расположением разветвлений (Li et al., 2008).

Помимо фукоиданов бурые водоросли синтезируют ряд уникальных вторичных метаболитов, в том числе полифенолы, которые также проявляют широкий спектр биологической активности

и действуют в малых концентрациях (Имбс, Звягинцева, 2018). Эти вещества часто экстрагируются вместе с фукоиданами, и не всегда удается освободиться от них во время процедуры очистки (Ragan, Glombitza, 1986). Присутствие примесей влияет на биологические свойства фукоидана и затрудняет оценку его биологической активности. Ранее нами было показано, что примесные фенолы играют ключевую роль в антиоксидантной активности, проявляемой фукоиданом из бурой водоросли *Fucus evanescens* (см.: Imbs et al., 2015).

Эмбрионы морского ежа являются удобной и чувствительной моделью для токсикологических, фармакологических и других биологических исследований (Бузников, Подмарев, 1975; Kobayashy, 1984). Цель настоящей работы — изучение влияния полифенольных примесей, содержащихся в образцах фукоидана бурой водоросли *Fucus distichus* subsp. *evanescens*, на развивающиеся эмбрионы морского ежа *Strongylocentrotus intermedius* и на способность фукоиданов с разной степенью очистки от полифенольных примесей снижать эмбриотоксическую активность тритерпенового

гликозида кукумариозида  $A_7$  из *Cucumaria frondosa* subsp. *japonica*.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материалом для исследований послужили образцы фукоиданов и фукофлоретол, выделенные из бурой водоросли фукуса, а также тритерпеновый гликозид кукумариозид  $A_7$ , выделенный из кукумари. Во всех экспериментах использовали фильтрованную морскую воду.

Морских ежей собирали в б. Троицы (зал. Петра Великого Японского моря). Эксперименты проводили на Морской экспериментальной станции Тихоокеанского института биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН (Хасанский район, Приморский край, Россия). Бурые водоросли собирали в июле 2011 г. у западного побережья о-ва Итуруп (Охотское море;  $44^{\circ}45'8''$  с.ш.,  $147^{\circ}10'5''$  в.д.) во время экспедиции на НИС “Академик Опарин”.

Свежий образец фукуса (800 г) промывали водой; затем удаляли механические примеси, обезжировали, выдерживая в 1 л 96% этанола (V/V) в течение 24 ч при температуре  $40^{\circ}\text{C}$ , и сушили в вакууме. В результате было получено 80 г сухой обезжиренной водоросли. Фукоидан экстрагировали из 40 г этой водоросли водным раствором 0.1 М HCl (pH 2–3) при температуре  $60^{\circ}\text{C}$  в течение 3 ч; экстракт центрифугировали, нейтрализовали и диализовали через мембрану “Thermo Scientific” (США), отсекая фракцию с молекулярной массой 3.5 кДа. Полисахарид осаждали из экстракта этанолом; выход полисахарида ( $F_0$ ) составил 3.6 г.

Полисахарид  $F_0$  делили на две порции. Первую порцию растворяли в воде (25 мг/мл), 60 мл загружали на колонку ( $3.0 \times 14$  см) с анионообменным носителем ДЭАЭ-целлюлоза в форме  $\text{Cl}^-$ . Нейтральные вещества элюировали водой, а затем линейным градиентом  $\text{H}_2\text{O}/2\text{M NaCl}$  (250/250 мл). Фракцию фукоидана, элюированную 2М раствором NaCl, диализовали и лиофильно сушили. В результате получили 330 мг полисахарида  $F_1$ . Вторую порцию полисахарида  $F_0$  обрабатывали 5%-ным водным раствором  $\text{H}_2\text{O}_2$  и 10%-ным водным раствором  $\text{NH}_3$  доводили до pH 8.5, как описано ранее (Урванцева и др., 2004). Смесь оставляли в темноте на 17 ч при комнатной температуре. Нерастворимый осадок удаляли центрифугированием. Супернатант диализовали против воды и дважды осаждали этиловым спиртом, осадок центрифугировали и сушили сначала ацетоном, затем эфиром на воздухе. Полученный полисахарид F хроматографировали, как описано выше. Фракцию фукоидана, элюированную 2М раствором NaCl, диализовали и лиофильно сушили. В результате было получено 300 мг фукоидана  $F_2$ .

В эксперименте использовали полифенольное соединение фукофлоретол, ранее выделенное нами из водно-этанольного экстракта бурой водоросли последовательно жидкостной экстракцией органическими растворителями и хроматографией на носителях: силикагель 100, полихром 1 и С-18. Соединение характеризовали методами ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии. Молекулярная масса фукофлоретола ( $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{O}_9$ ) составила 374 Да, что соответствует трем единицам флороглюцина в полимерной молекуле (Silchenko et al., 2017; Imbs et al., 2018).

Подфракцию полярных кукумариозидов группы  $A_7$  из кукумари получали методом тонкослойной хроматографии суммы гликозидов на силикагеле. Затем проводили разделение данной фракции методом обращенно-фазовой хроматографии на жидкостном хроматографе высокого давления. В работе использовали смесь гликозидов  $A_7$ -1,  $A_7$ -2 и  $A_7$ -3 в соотношении 53.6, 6.4 и 21.3% соответственно (Дроздова и др., 1993).

Выход полисахаридов после хроматографии и содержание общих углеводов в образцах фукоидана, а также моносахаридный состав и количество сульфатных групп в образцах полисахарида определяли, как описано ранее (Урванцева и др., 2004). Общее содержание полифенолов определяли по методу Фолина–Чокальтеу (Kuda, Ikemori, 2009) с использованием флороглюцина (“Merck”, США) в качестве стандарта. Содержание фенола выражали в миллиграммах эквивалента флороглюцина на 1 г сухого вещества (мгPGEq/гDW).

Оптическое вращение водных растворов полисахаридов ( $[\alpha]_D^{20}$ , 1 мг/мл) измеряли на поляриметре “Perkin-Elmer 141” (Германия) на натриевой лампе при длине волны 580 нм. УФ-спектры поглощения образцов фукоидана регистрировали на спектрофотометре Cecil CE 7200 “Hitachi” (США).

Спектры флуоресценции образцов фукоидана регистрировали на спектрофлуориметре “Hitachi-850” (Япония) в диапазоне от 380 до 600 нм, используя возбуждение при 366 нм, в кварцевой кювете с толщиной слоя 1 см. Спектры корректировали по родамину В и записывали в режиме интеграции. Площади под спектрами флуоресценции образцов полисахарида рассчитывали, вычитая площадь под спектром буферного раствора из общей площади спектра. Ширина щели на монохроматорах возбуждения и излучения составляла 5 нм, скорость записи спектров – 100 нм/мин.

$^{13}\text{C}$  ЯМР-спектры полисахаридов регистрировали на ЯМР-спектрометре “Avance DPX-700” (Bruker, Германия) ( $60^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{D}_2\text{O}$ ). ЯМР-спектры полифенольных соединений регистрировали на ЯМР-спектрометре “Avance-III 500 HD” (Bruker, Германия) при температуре  $35^{\circ}\text{C}$  в дейтерирован-

ном метаноле (MeOD). В качестве внутреннего стандарта в обоих случаях использовали тетраметилсилан.

Мужские и женские гаметы морского ежа получали, а также проводили оплодотворение особей морского ежа в соответствии с известными методиками с некоторыми модификациями (Бузников, Подмарев, 1975; Киселева и др., 2005, 2015). Свежевыловленных морских ежей при помощи механического встряхивания разделяли на самцов и самок, которых содержали в отдельных емкостях. Яйцеклетки и спермии собирали в разные стаканы с морской водой, пропускали через сита (размер ячеек  $100 \times 100$  мкм), давали осесть на дно заполненной емкости и дважды промывали морской водой, чтобы смыть желеобразное покрытие яйца. Перед началом опытов проводили пробное оплодотворение. В экспериментах использовали яйцеклетки со степенью оплодотворения не менее 98%. Время от получения яйцеклеток до их осеменения не превышало 1 ч. Все опыты проводили одновременно в 12-луночных планшетах компании ООО “БиолоТ” (Россия) на одних и тех же партиях эмбрионов при температуре  $20 \pm 0.5^\circ\text{C}$ .

При оценке влияния фукоиданов  $F_0$ ,  $F_1$  и  $F_2$  на эмбриогенез морского ежа к 0.9 мл суспензии (2500/мл) яйцеклеток через 3–5 мин после оплодотворения добавляли 0.1 мл раствора испытуемых веществ в морской воде. Конечная концентрация фукоиданов в инкубационной смеси составляла 10, 50, 100, 250, 500 и 1000 мкг/мл. Через каждые трое суток инкубации ко всем пробам добавляли по 0.5 мл морской воды для поддержания необходимого уровня кислорода.

В параллельных экспериментах к яйцеклеткам через 3–5 мин после оплодотворения добавляли кукумариозид  $A_7$  и фукофлоретол в исследуемых концентрациях. Конечная концентрация кукумариозидов  $A_7$  в инкубационной смеси составляла 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 1.2, 2.5, 5.0 и 10.0 мкг/мл, а фукофлоретол — 10, 20, 30, 40 и 50 мкг/мл. Инкубационная смесь содержала 0.1 мл раствора фукофлоретол (не более 10% метанола в морской воде) или 0.1 мл раствора гликозида (не более 10% этанола в морской воде) и 0.9 мл суспензии оплодотворенных яйцеклеток (2500/мл). Оплодотворенные яйцеклетки с испытуемыми веществами инкубировали в течение 48 ч до стадии плутеуса — 24–25-я стадии (по: Бузников, Подмарев, 1975).

При изучении совместного действия фукоиданов  $F_1$ ,  $F_2$  и кукумариозидов  $A_7$  на эмбриогенез морского ежа исследуемые образцы добавляли на стадии зиготы к суспензии оплодотворенных яйцеклеток (2500/мл) последовательно: фукоидан — через 3–5 мин после оплодотворения, кукумариозид  $A_7$  — через 30 мин инкубации оплодотворенных яйцеклеток с фукоиданом. Инкубационная

смесь состояла из 0.8 мл суспензии яйцеклеток и из растворов фукоидана и кукумариозидов  $A_7$  (по 0.1 мл).

За развитием эмбрионов во всех экспериментах наблюдали в микроскоп “Motic AE 21” (Китай), визуально определяя основные признаки и стадию развития (по: Бузников, Подмарев, 1975), вплоть до гибели всех эмбрионов. В качестве контроля использовали эмбрионы в морской воде. Стандартными критериями для положительной оценки действия веществ были синхронность деления яйцеклеток, нормальное функционирование эмбрионов, а также их подвижность и жизнеспособность. Цитотоксическое действие соединений оценивали по их способности вызывать блокаду или тормозить деление оплодотворенных яйцеклеток. Кроме этого на стадиях эмбрионального развития морских ежей регистрировали различные аномалии, замедленное или вращательное движение эмбрионов (Kobayashi, 1984; Kobayashi, Okamura, 2002), а также определяли концентрацию, вызывающую гибель 50% эмбрионов ( $ИК_{50}$ ). Выживаемость эмбрионов оценивали как отношение времени их жизни под действием веществ (сут) ко времени жизни в контрольном эксперименте (сут), выраженное в процентах. Все эксперименты выполняли одновременно в одинаковых условиях с использованием одной партии эмбрионов в 5–10 параллельных опытах с тремя повторами для каждой концентрации веществ.

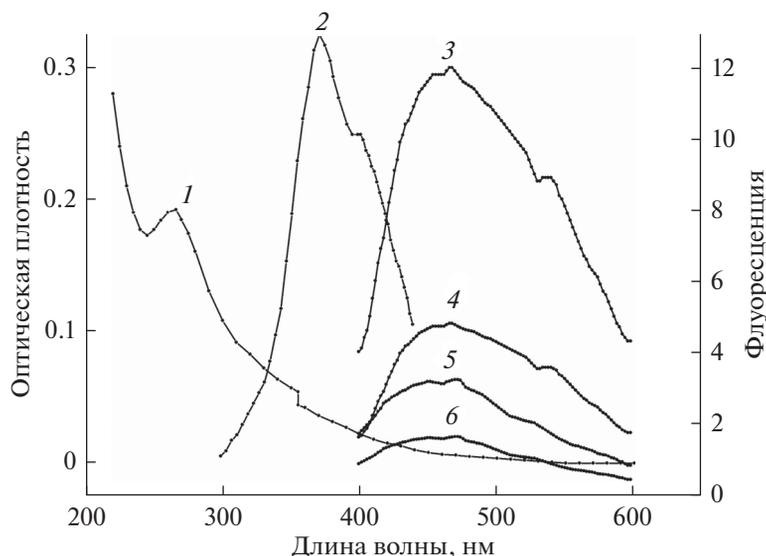
Достоверность результатов в условиях заданной доверительной вероятности  $p \leq 0.05$  оценивали с помощью методов дисперсионного анализа ANOVA в пакете прикладных программ Origin 8.1; анализировали кривые доз-зависимости и выбирали модели для определения  $ИК_{50}$  также с помощью программного обеспечения Origin 8.1 (“OriginLab”, США).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### *Характеристика образцов фукоидана*

Образец фукоидана  $F_0$  имел УФ-спектр поглощения с максимумом при 268 нм (рис. 1, спектр 1), что характерно для ароматических соединений. Максимум спектра возбуждения образца фукоидана  $F_0$  располагался при 366 нм (рис. 1, спектр 2). Спектр флуоресценции этого образца имел широкий максимум в диапазоне 450–455 нм и плечо в диапазоне 530–550 нм (рис. 1, спектр 3). По данным метода Фолина–Чокальтеу (Kuda, Ikemori, 2009), этот образец содержал 33.3 мг PGEq/gDW полифенольных соединений (табл. 1). Степень очистки образца  $F_0$   $m = 0$  (табл. 2).

Фукоидан  $F_1$ , полученный после анионообменной хроматографии исходного полисахарида



**Рис. 1.** Спектры поглощения (1), возбуждения (2) и флуоресценции (3) фукоидана  $F_0$ ; спектры флуоресценции фукоиданов разной степени очистки от полифенольных примесей:  $F_1$  (4),  $F$  (5) и  $F_2$  (6). Концентрация образцов 5 мг/мл, 0.1 М  $\text{Na}^+$ -фосфатный буфер, pH 8.5; кювета 1 см, возбуждение светом с длиной волны 366 нм, ширина щели на монохроматорах возбуждения и излучения – 5 нм.

$F_0$ , также имел спектр флуоресценции (рис. 1, спектр 4), но его интенсивность была меньше. Этот образец содержал 20 мгPGEq/gDW полифенольных соединений (табл. 1). Степень очистки образца  $F_1$   $m = 0.60$  (табл. 2).

Фукоидан  $F_0$  был обработан 5%-ным водным раствором  $\text{H}_2\text{O}_2$ , и была получена фракция полисахарида  $F$ , в которой еще сохранялась флуоресценция (рис. 1, спектр 5). В результате хроматографии фукоидана  $F$  на анионообменном носителе получен фукоидан  $F_2$  с нулевой флуоресценцией (рис. 1, спектр 6). Согласно данным метода Фолина–Чокальтеу (Kuda, Ikemori, 2009), фукоидан  $F_2$  не содержал полифенольные примеси (табл. 1). Степень очистки образца  $F_2$   $m = 0.98$  (табл. 2).

По данным ЯМР спектроскопии структуры фукоиданов  $F_1$  и  $F_2$  были подобны и представляли собой сульфатированный  $\alpha$ -L-фукан, имеющий линейную цепь чередующихся (1  $\rightarrow$  3)- и (1  $\rightarrow$  4)-связанных остатков  $\alpha$ -L-фукопиранозы, сульфатированных по C2 и C4 (1  $\rightarrow$  3)- $\alpha$ -L-фукопира-

нозных остатков (спектры не приводятся) (Урванцева и др., 2004). Фукоидан  $F_2$  был освобожден от примесей полифенольных соединений ( $m = 0.98$ ), показатель оптического угла вращения  $[\alpha]_D^{20}$  ( $-173.0$ ) соответствовал таковому ранее охарактеризованного фукоидана из *F. evanescens* (табл. 2) (Bilan et al., 2002).

#### Влияние образцов фукоидана $F_0$ , $F_1$ и $F_2$ на эмбриогенез морского ежа

При низкой концентрации фукоидана  $F_0$  (10–50 мкг/мл) выживаемость эмбрионов морского ежа по сравнению с таковой в контроле (рис. 2а; табл. 3) увеличивалась. При повышении концентрации этого фукоидана наблюдались асинхронное деление, аномалии и частичная гибель эмбрионов, что сопровождалось лизисом бластомеров. Через 0.5 сут инкубации фукоидан  $F_0$  в концентрации 500 мкг/мл вызывал гибель и лизис 30% эмбрионов, а в концентрации 1000 мкг/мл –

**Таблица 1.** Основные характеристики образцов полисахарида разной степени очистки

Образец	Выход, %	Фолин–Чокальтеу, мгPGEq/gDW	Сульфатные группы, %	Состав нейтральных моносахаридов, %				
				Fuc	Man	Gal	Glc	Xyl
$F_0$	100	33.3	14.3	59.4	3.2	7.2	25.0	5.7
$F_1$	Не определяли	20.0	28.0	91.5	0	3.0	0	0.5
$F_2$	38	0	31.4	94.6	0.3	4.2	0	0.9

Примечание. Fuc – фукоза, Man – манноза, Gal – галактоза, Glc – глюкоза, Xyl – ксилоза.

**Таблица 2.** Спектральные характеристики образцов фукоидана

Образец	ОП <sub>366</sub> *	$[\alpha]_D^{20}, \text{H}_2\text{O}$	$m = 1 - S/S_0$
F <sub>0</sub>	0.285	-114.8	0
F <sub>1</sub>	0.114	—	0.60
F <sub>2</sub>	0.015	-173.0	0.98

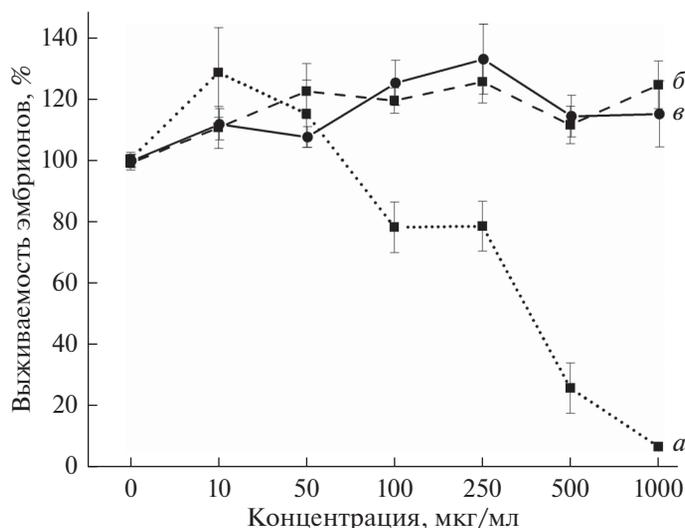
\*Кювета – 1 см, концентрация полисахарида 2 мг/мл. Примечание.  $S$  – площадь под спектром флуоресценции исследуемых образцов очищенного фукоидана;  $S_0$  – площадь под спектром флуоресценции исходного образца фукоидана F<sub>0</sub>; ОП<sub>366</sub> – оптическая плотность раствора полисахарида при 366 нм;  $m$  – степень очистки.

гибель 80% эмбрионов (табл. 3; рис. 2) на стадии одного бластомера (рис. 3Аа), часть которых была лизирована.

При действии фукоидана F<sub>1</sub> (степень очистки  $m = 0.60$ ) в концентрации 500–1000 мкг/мл через 0.5 сут инкубации эмбрионы начинали делиться асинхронно, а через 1.5 сут появились эмбрионы с морфологическими аномалиями, отстававшие в развитии (табл. 3; рис. 2б и рис. 3Б: а, б).

Фукоидан F<sub>2</sub> через 0.5 сут инкубации во всех исследованных концентрациях оказывал положительное влияние на развивающиеся эмбрионы. При его действии в концентрации 100–250 мкг/мл наблюдалось как опережение в развитии, так и увеличение продолжительности жизни эмбрионов на 30–50% относительно контрольных зародышей (табл. 3; рис. 2в). Однако при концентрации фукоидана F<sub>2</sub> 500–1000 мкг/мл появлялись аномалии в развитии эмбрионов на стадии раннего плутеуса (рис. 3Б: г), что соответствует 22–23-й стадиям (по: Бузников, Подмарев, 1975) (табл. 3; рис. 3А: в, г).

Фукоиданы F<sub>0</sub> и F<sub>1</sub> с разной степенью загрязнения полифенолами, а также образец F<sub>2</sub>, очищенный от полифенолов, в низких концентрациях (10–50 мкг/мл) повышали выживаемость эмбрионов. Различие наблюдалось при более высоком содержании этих полисахаридов. Так, при концентрации фукоидана F<sub>0</sub> 100–1000 мкг/мл отмечена частичная или полная гибель эмбрионов. Фукоиданы F<sub>1</sub> и F<sub>2</sub> в этой же концентрации не оказывали губительного действия на жизнеспособность эмбрионов (рис. 2). Однако в присутствии фукоидана F<sub>1</sub> увеличилось число аномальных эмбрионов на всех стадиях развития (табл. 3; рис. 3Б), что наглядно представлено на фотографиях эмбрионов через 3 сут инкубации (рис. 4). При концентрации фукоидана F<sub>2</sub> 100 мкг/мл эмбрионы развивались без морфологических нарушений (рис. 4). Действие фукоидана F<sub>1</sub> в этой же концентрации проявлялось как аномалии в развитии эмбрионов, а при концентрации 1000 мкг/мл через 3 сут инкубации отмечено отставание в развитии эмбрионов и увеличение числа аномалий.



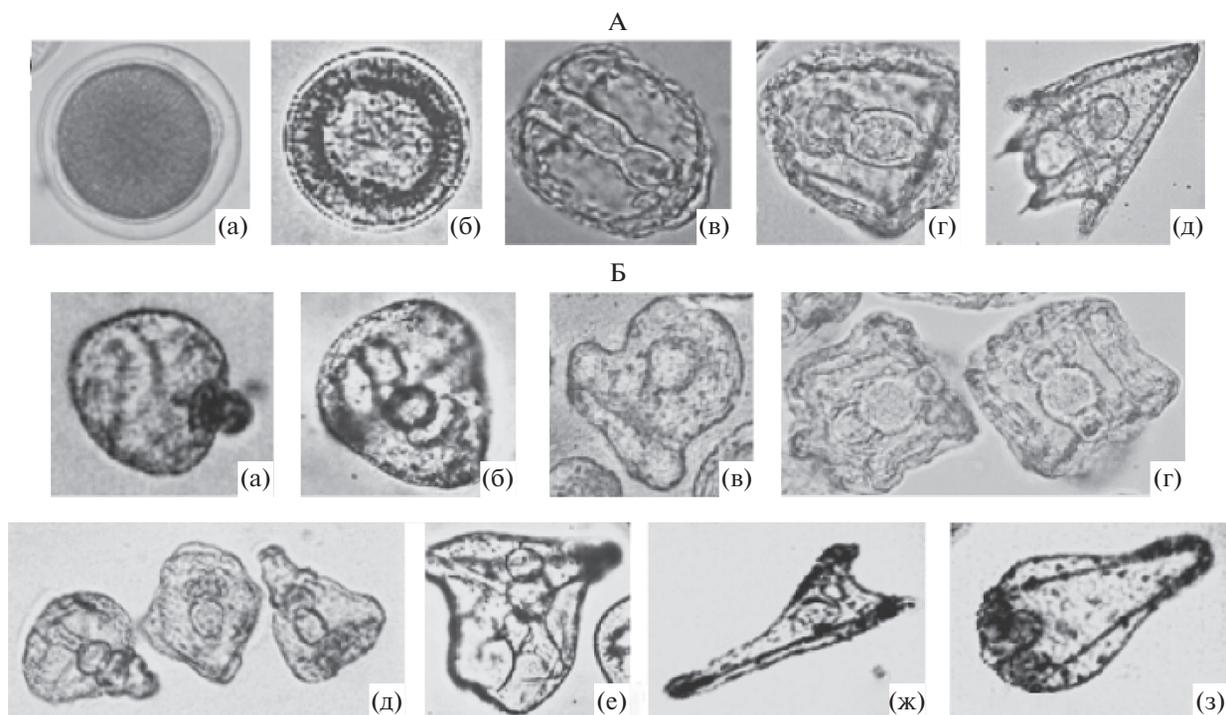
**Рис. 2.** Влияние фукоиданов с разной степенью очистки от полифенолов на эмбриогенез морского ежа: а – F<sub>0</sub>; б – F<sub>1</sub>; в – F<sub>2</sub>. Результаты представлены в виде графиков зависимости средних значений выживаемости эмбрионов от концентраций полисахаридов ± стандартная ошибка среднего (вертикальные линии) при доверительной вероятности  $p \leq 0.05$ .

Таблица 3. Влияние образцов фукоидана разной степени очистки на развивающиеся эмбрионы морского ежа

Образец фукоидана	Концентрация, мкг/мл	Время инкубации после оплодотворения, сут			
		0.5	1.5	3	4
контроль	0	10–11	22–23	24–25, ан. (д, е) 10%, д.з. Г 50%	24–25, ан. (е, ж) 10%, д.з. Г 50%
F <sub>0</sub>	10–50*	10–11	22–23, ан. (в) 20%	24–25, ан. (д, е) 20%, д.з. 50%	25, ан. (е, ж), д.з., крут. 50%, Г 5%
	100–250	9 < 10 > 11	22–23, ан. (в) 30%, Г 30%	24–25, ан. (д, е), д.з. 50%, Г 30%	25, ан. (е, ж), д.з., крут. 50%, Г 45%
	500	3–4 < 8–10 > 11–12, ан. 30%, Г, Л 30%	19–23, д.з. ан. (а, б, г), Г, Л 60%	Г	Г
	1000	3–4, ан., Г 80% (1 бл.), Л (черный) 30%	Г	Г	Г
F <sub>1</sub>	10–50	10–11 > 12	22–23	24–25, Г 10%	25, ан. (д, е, ж), д.з. 70%, крут. 30%, Г 5%
	100	10–11 > 12	22–23	24–25, ан. (д, е), д.з. 20%, Г 10%	24–25, ан. (д, е, ж), д.з., 70%, крут. 30%, Г 10%
	250	10–11 > 12	22–23	23–25, ан. (г, д), д.з., Г 10%	24–25, ан. (д, е, ж), д.з., крут. 30%, Г 10%
	500	9 < 10–11 > 12	19–23, ан. (а, б), д.з. 20%	23–24, ан. (г, д), д.з., Г 20%	24–25, ан. (д, е, ж), д.з., 70%, крут. 30%, Г 30%
	1000	9 < 10–11 > 12	18–22, ан. (а, б), д.з. 30%	22–24, ан. (б, г, д), д.з., Г 30%	22–24, ан. (б, г, д, е, ж), д.з., Г 40%
F <sub>2</sub>	10–50	10–11 > 12	23–24	24–25	25, ан. (е, ж), д.з. 50%, крут. 10%
	100–250	11–12	22–24	24–25	25–26, ан. (е, ж, з) 50%, крут. 30%, Г 30%
	500	10–11 > 12	22–23, ан. (в), д.з. 10%	23–25, ан. (в), д.з. 10%, Г 10%	24–25, ан. (е, ж, з) 50%, крут. 15%, Г 10%
	1000	10–11 > 12	21–22, ан. (в), д.з. 20%	22–25, ан. (в), д.з. 25%, Г 15%	24–25, ан. (е, ж, з) 50%, крут. 15%, Г 15%

\*В пределах обозначенного диапазона концентрации результаты действия фукоиданов не изменялись.

Примечание. Контроль – эмбрионы в морской воде; F<sub>0</sub> – образец фукоидана в природном комплексе с полифенолами; F<sub>1</sub> – образец фукоидана в природном комплексе с полифенолами; F<sub>2</sub> – образец фукоидана, освобожденный от полифенольных примесей. Стадии развития: 3 – 2 blastomera, 4 – 4 blastomera; 8, 9 – ранняя blastula 1 и 2 соответственно; 10, 11 – средняя blastula 1 и 2 (выупление) соответственно; 12 – поздняя blastula 1; 15 – ранняя gastrula 2; 18, 19 – поздняя gastrula 1 и 2 соответственно; 20, 21 – призма 1 и 2 соответственно; 22, 23, 24 – ранний плутеус 1, 2 и 3 соответственно; 25, 26 – средний плутеус 1 и 2 соответственно (Бузников, Подмарев, 1975); Г – гибель яйцеклеток; Л – лизис яйцеклеток. Условные обозначения: ан. – аномальное развитие эмбрионов; а, б, в, г, д, е, ж, з – аномальные стадии, как на рис. 3; бл. – blastomer, д.з. – движение эмбрионов замедленное; крут. – крутящиеся эмбрионы. Приведены результаты пяти экспериментов, доверительный интервал  $p \leq 0.05$ .



**Рис. 3.** Эмбрионы морского ежа *Strongylocentrotus intermedius* на разных стадиях развития. А — нормальное развитие эмбрионов: а — оплодотворенная яйцеклетка (1 бластомер), б — бластула (10-я стадия), в — призма (21-я стадия), г и д — ранний и средний плутеус (23-я и 25-я стадии соответственно). Б — аномалии в развитии эмбрионов, отмеченные на стадиях: а, б — гастролы (16–19-я стадии), в — призмы (21-я стадия) и г, д, е, ж, з — раннего и среднего плутеуса (22–26-я стадии); номер стадии по: Бузников, Подмарев (1975). Ув.  $\times 40$ .

При этой же концентрации фукоидана  $F_2$  аномалий в развитии эмбрионов не наблюдалось, но отмечено отставание в их развитии (табл. 3; рис. 4).

#### *Действие фукофлоретола и кукумариозида $A_7$ на эмбриогенез морского ежа*

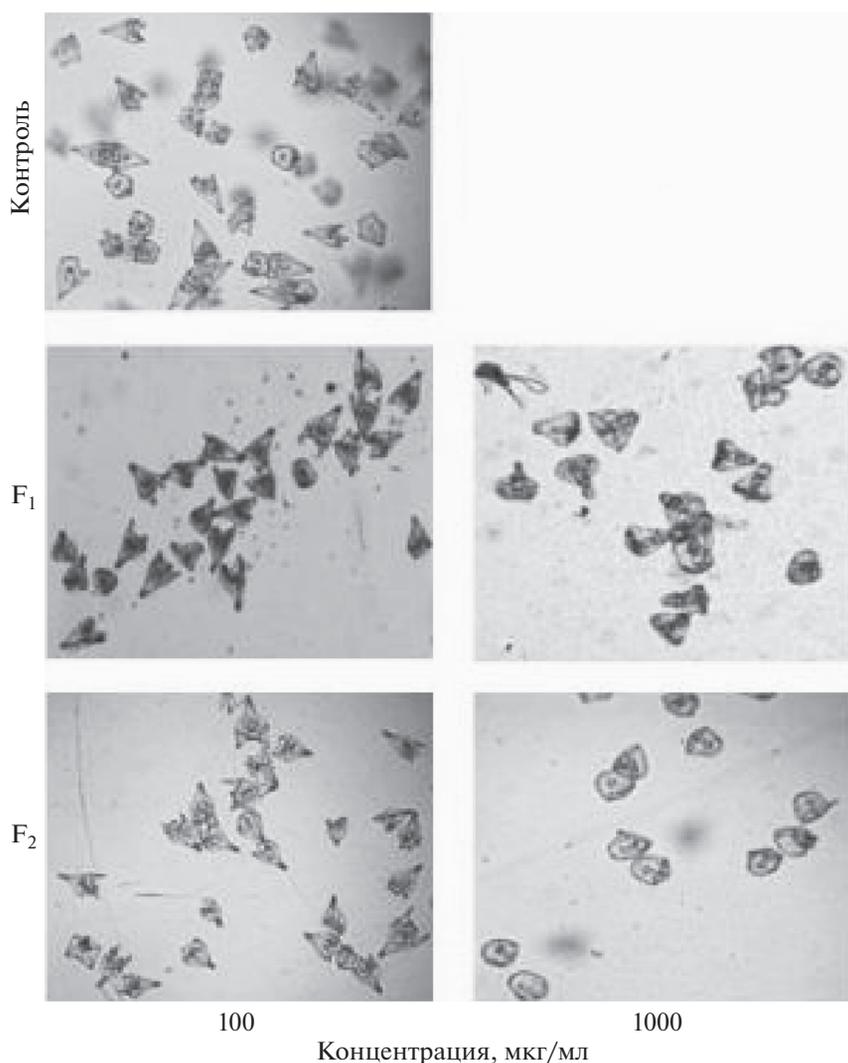
В концентрации  $\geq 50$  мкг/мл полифенол блокировал деление и вызывал лизис яйцеклеток на стадии 1 бластомера. В концентрации  $< 50$  мкг/мл (134 мкмоль/л) фукофлоретол ингибировал развитие эмбрионов частично, что проявлялось в течение всего инкубационного периода.

Кукумариозид  $A_7$  оказывал цитотоксическое действие в концентрации  $\geq 1.2$  мкг/мл (0.79 мкмоль/л). Влияние гликозида в концентрации  $< 1.2$  мкг/мл приводило к задержке развития, частичной гибели и морфологическим нарушениям в развитии эмбрионов (рис. 3Б: в), тогда как в концентрации 0.2 мкг/мл это соединение оказывало слабое стимулирующее действие (рис. 5б, рис. 6). Значения  $ИК_{50}$  для фукофлоретола и кукумариозида  $A_7$  составили  $96.9 \pm 12.2$  и  $0.39 \pm 0.01$  мкмоль/л соответственно (рис. 5в, г).

#### *Совместное действие фукоиданов $F_1$ , $F_2$ и кукумариозида $A_7$ на эмбриогенез морского ежа*

Фукоиданы  $F_1$  и  $F_2$  в исследованных концентрациях снимали токсическое действие кукумариозида  $A_7$  на развивающиеся эмбрионы морского ежа (рис. 6), за исключением кукумариозида  $A_7$  в концентрации 0.6 мкг/мл, при которой фукоидан  $F_1$  практически не оказывал защитного действия. Наиболее эффективно эмбрионы морского ежа защищал фукоидан  $F_2$  в концентрациях 100–250 мкг/мл (рис. 6а).

В данном исследовании мы привели результаты изучения биологических свойств образцов фукоидана  $F_0$ ,  $F_1$  и  $F_2$  из бурой водоросли *F. evanescens*, которые имеют одинаковую структуру, но различаются по степени загрязнения полифенольными соединениями, образующими с полисахаридом прочный комплекс. Очистка полисахарида заключалась в разрушении данного комплекса под действием перекиси водорода и в последующей хроматографии на анионообменном носителе. Степень загрязнения образцов фукоидана полифенольными соединениями контролировали методом флуоресценции самих соединений (Урванцева и др., 2004) и колориметрическим методом Фолина—Чокальтеу (Kuda, Ikemori, 2009). Результаты, полученные с по-

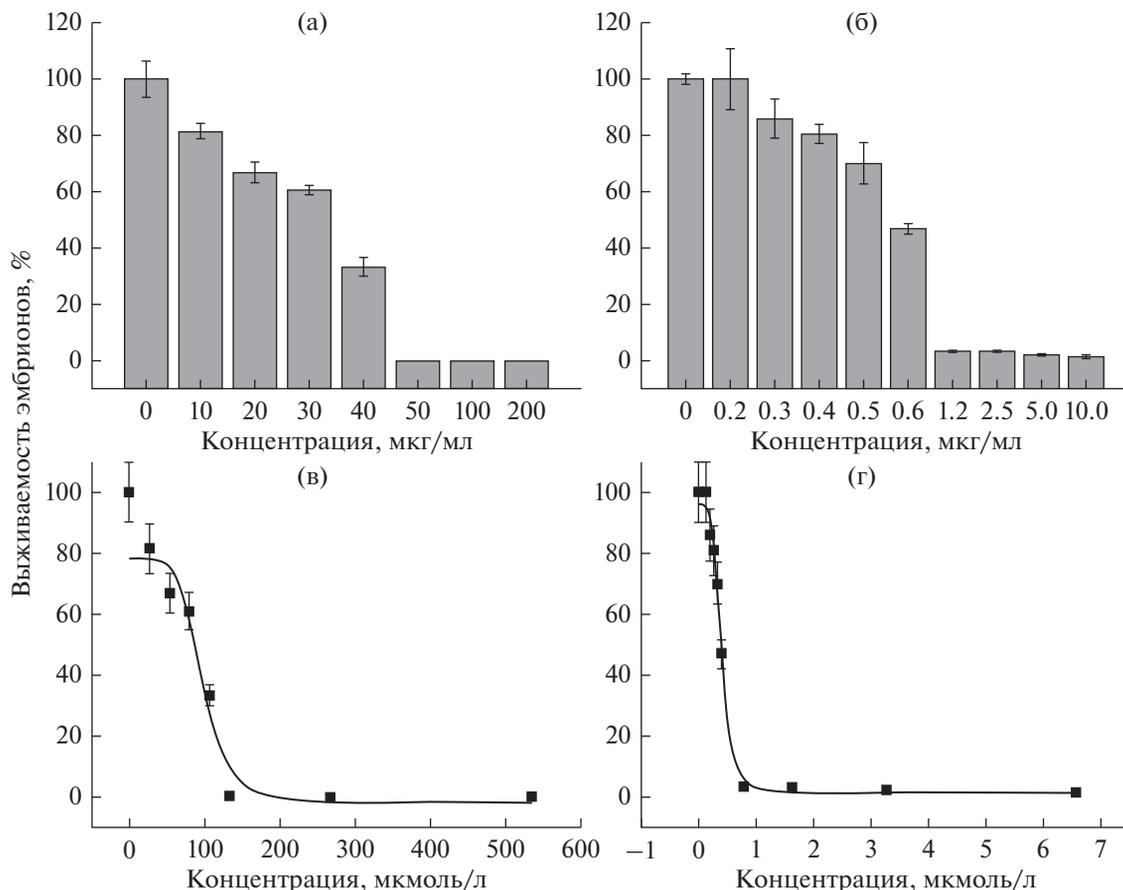


**Рис. 4.** Влияние фукоиданов  $F_1$  и  $F_2$  в концентрациях 100 и 1000 мкг/мл на развивающиеся эмбрионы морского ежа через трое суток инкубации. Контроль – эмбрионы в морской воде. Ув.  $\times 10$ .

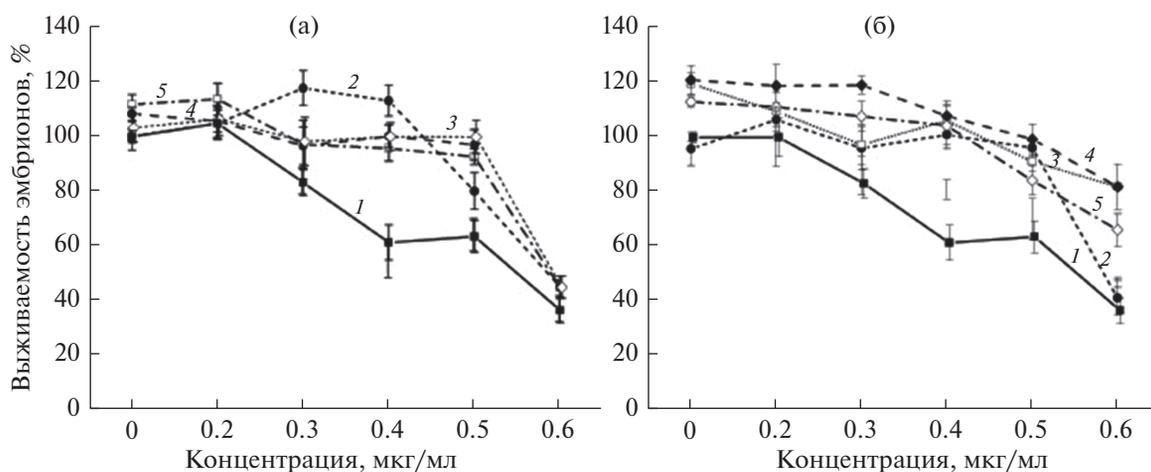
мощью этих методов, хорошо согласуются. Однако простой и высокочувствительный метод собственной флуоресценции позволяет без дополнительных реагентов и разрушения структуры полисахарида выявить присутствие полифенольных соединений. Этот метод очень удобен для контроля очистки полисахаридов от любых флуоресцирующих примесей.

Для изучения биологической активности полисахаридов нами давно и успешно применяется модель развивающихся эмбрионов морского ежа. В наших ранних исследованиях показано, что полисахариды бурых водорослей независимо от моносахаридного состава увеличивали продолжительность жизни эмбрионов (Киселева и др., 2005, 2015; Kiseleva et al., 2008). Степень очистки полисахаридов от полифенольных примесей в данных исследованиях не контролировали. В настоящей работе исследовали влияние на эмбрио-

генез морского ежа одного фукоидана, но с разным содержанием полифенольных примесей (образцы  $F_1$  и  $F_2$ ) (табл. 1). Сырой образец фукоидана  $F_0$  был гетерогенным по моносахаридному составу и содержал наибольшее количество полифенолов (33.3 мгPGEq/гDW, степень очистки  $m = 0$ ). В концентрациях  $\geq 100$  мкг/мл этот образец проявлял высокую эмбриотоксическую активность (рис. 2a). Цитотоксический эффект частично очищенного образца фукоидана  $F_1$  (20.0 мгPGEq/гDW,  $m = 0.6$ ) наблюдался лишь при концентрациях 500 и 1000 мкг/мл. Наиболее благоприятным для жизнедеятельности эмбрионов оказался образец фукоидана  $F_2$ , очищенный от полифенольных примесей. Этот образец, как и образец фукоидана  $F_1$ , поддерживал и удлинял жизнь эмбрионов, а также, что очень важно, предупреждал появление аномалий в их развитии. Фукофлоретол – полифе-



**Рис. 5.** Цитотоксическое действие фукофлоритола (а) и кукумариозида А<sub>7</sub> (б) на развивающиеся эмбрионы морского ежа *Strongylocentrotus intermedius*, а также сигмоидальная доз-зависимость выживаемости эмбрионов для определения ИК<sub>50</sub> фукофлоритола (в) и кукумариозида А<sub>7</sub> (г). В результате подгонки теоретических зависимостей к экспериментальным точкам по модели Хилла определены коэффициенты нелинейной регрессии  $k$  и  $n$ , соответствующие ИК<sub>50</sub> и коэффициенту кооперативности, который отражает число мест связывания лиганда. Вертикальные линии на рисунках (а) и (б) отражают стандартную ошибку среднего, тогда как на рисунках (в) и (г) — стандартную ошибку подгонки теоретической кривой к экспериментальным точкам.



**Рис. 6.** Совместное действие фукоиданов и тритерпенового гликозида кукумариозид А<sub>7</sub>. а — фукоидан F<sub>1</sub> ( $m = 0.60$ ); б — фукоидан F<sub>2</sub> ( $m = 0.98$ ). 1 — кукумариозид А<sub>7</sub>; 2 — 10 мкг/мл фукоидана + кукумариозид А<sub>7</sub>; 3 — 50 мкг/мл фукоидана + кукумариозид А<sub>7</sub>; 4 — 100 мкг/мл фукоидана + кукумариозид А<sub>7</sub>; 5 — 250 мкг/мл фукоидана + кукумариозид А<sub>7</sub>. Результаты представлены в виде графиков зависимости средних значений выживаемости эмбрионов от концентраций кукумариозида  $\pm$  стандартная ошибка среднего (вертикальные линии) при доверительной вероятности  $p \leq 0.05$ .

нольное соединение, выделенное из этой же водоросли, оказывал цитотоксическое действие в концентрациях  $\leq 50$  мкг/мл; ИК<sub>50</sub> =  $96.9 \pm 12.2$  мкмоль/л (рис. 5а, б).

Ранее на модели развивающихся эмбрионов морского ежа нами было показано, что фукоиданы снижают токсическое действие ингибиторов белковой природы из бурой водоросли *Saccharina cichorioides* (см.: Киселева и др., 2015), однако содержание полифенольных примесей в образцах белков и полисахаридов не определялось. В качестве токсина мы выбрали кукумариозид А<sub>7</sub> из голотурии *S. frondosa*, известный как соединение, ингибирующее и блокирующее деление яйцеклеток в наномолярных концентрациях (Agafonova et al., 2003). В нашем эксперименте кукумариозид А<sub>7</sub> также показал высокую цитотоксическую активность (ИК<sub>50</sub> =  $0.39 \pm 0.01$  мкмоль/л). При предварительной обработке эмбрионов образцами фукоидана F<sub>1</sub> и F<sub>2</sub> токсическое действие этого соединения различалось. Особенно заметное различие защитных свойств фукоиданов F<sub>1</sub> и F<sub>2</sub> было отмечено при высоких концентрациях кукумариозида А<sub>7</sub> (0.6 мкг/мл) и полисахарида (100 и 250 мкг/мл). Наиболее эффективную защиту оказывал высокоочищенный образец фукоидана F<sub>2</sub> (степень очистки  $m = 0.98$ ) (рис. 6б, линии 4 и 5): выживаемость эмбрионов в его присутствии увеличилась по сравнению с таковой в контроле и при действии фукоидана F<sub>1</sub> (рис. 6а, линии 4 и 5) более чем на 40%.

Таким образом, на модели развивающихся эмбрионов морского ежа было показано, что лишь полностью очищенный от полифенольных примесей образец фукоидана (F<sub>2</sub>) из бурой водоросли *F. distichus* стимулировал эмбриогенез и эффективно защищал эмбрионы от токсического действия кукумариозида А<sub>7</sub>. Полифенольные примеси негативно влияли на биологическую активность образцов фукоидана, вызывая появление большого количества эмбрионов с морфологическими нарушениями. Образец фукоидана (F<sub>1</sub>), содержащий полифенолы, не снижал эмбриотоксическое действие высоких концентраций кукумариозида А<sub>7</sub>. В связи с этим следует отметить, что при изучении биологических свойств фукоиданов необходимо контролировать количество примеси полифенольных соединений, которые можно легко обнаружить при измерении спектра флуоресценции образца полисахарида.

#### 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.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-04-00591.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Выражаем искреннюю признательность сотрудникам Национального научного центра морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН к.б.н. А.В. Скрипцовой за идентификацию бурых водорослей.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бузников Г.А., Подмарев В.К. Морские ежи *Strongylocentrotus drobachiensis*, *S. nudus*, *S. intermedius* // Объекты биологии развития. М.: Наука. 1975. С. 178–216.
- Дроздова О.А., Авиллов С.А., Калиновский А.И. и др. Три-сульфатированные гликозиды из голотурии *Cucumaria japonica* // Химия природ. соедин. 1993. № 3. С. 369–374.
- Имбс Т.И., Звягинцева Т.Н. Флоротаннины – полифенольные метаболиты бурых водорослей // Биол. моря. 2018. Т. 44. № 4. С. 217–227.
- Киселева М.И., Шевченко Н.М., Крупнова Т.Н., Звягинцева Т.Н. Влияние фукоиданов на развивающиеся эмбрионы морского ежа *Strongylocentrotus intermedius* // Журн. эвол. биохим. и физиол. 2005. Т. 41. № 1. С. 51–57.
- Киселева М.И., Ермакова С.П., Звягинцева Т.Н. Действие белков и полисахаридов бурых водорослей на оплодотворение яйцеклеток и развитие эмбрионов морского ежа *Strongylocentrotus intermedius* A. Agassiz, 1863 // Биол. моря. 2015. Т. 41. № 6. С. 437–446.
- Урванцева А.М., Бакунина И.Ю., Ким Н.Ю. и др. Выделение очищенного фукоидана из природного комплекса с полифенолами и его характеристика // Химия растит. сырья. 2004. № 3. С. 15–24.
- Agafonova I.G., Aminin D.L., Avilov S.A., Stonik V.A. Influence of cucumariosides upon intracellular  $[Ca^{2+}]_i$  and lysosomal activity of macrophages // J. Agric. Food Chem. 2003. V. 51. № 24. P. 6982–6986.
- Bilan M.I., Grachev A.A., Ustuzhanina N.E. et al. Structure of a fucoidan from the brown seaweed *Fucus evanescens* C. Ag. // Carbohydr. Res. 2002. V. 337. № 8. P. 719–730.
- Imbs T.I., Skriptsova A.V., Zvyagintseva T.N. Antioxidant activity of fucose-containing sulfated polysaccharides obtained from *Fucus evanescens* by different extraction methods // J. Appl. Phycol. 2015. V. 27. № 1. P. 545–553.
- Imbs T.I., Silchenko A.S., Fedoreev S.A. et al. Fucoidanase inhibitory activity of phlorotannins from brown algae // Algal Res. 2018. V. 32. № 1. P. 54–59.

- Kiseleva M.I., Balabanova L.A., Rasskazov V.A., Zvyagintseva T.N.* Effect of 1,3;1,6- $\beta$ -D-glucans on developing sea urchin embryos // *Mar. Biotechnol.* 2008. V. 10. № 4. P. 466–470.
- Kobayashi N.* Marine ecotoxicological testing with echinoderms. In *Ecotoxicological Testing for the Marine Environment (Proc. International Symposium on Ecotoxicological Testing for the Marine Environment, Ghent, Belgium, September 12–14, 1983)*, Persoone G., Jaspers E., Claus C., Eds., Bredene, Belgium: State Univ. of Ghent, 1984. V. 1. P. 341–405.
- Kobayashi N., Okamura H.* Effects of new antifouling compounds on the development of sea urchin // *Mar. Pollut. Bull.* 2002. V. 44. № 8. P. 748–751.
- Kuda T., Ikemori T.* Minerals, polysaccharides and antioxidant properties of aqueous solutions obtained from macroalgal beach-casts in the Noto Peninsula, Ishikawa, Japan // *Food Chem.* 2009. V. 112. № 3. P. 575–581.
- Kusaykin M., Bakunina I., Sova V. et al.* Structure, biological activity, and enzymatic transformation of fucoidans from the brown seaweeds // *Biotechnol. J.* 2008. V. 3. № 7. P. 904–915.
- Li B., Lu F., Wei X., Zhao R.* Fucoidan: structure and bioactivity // *Molecules.* 2008. V. 13. № 8. P. 1671–1695.
- Luthuli S., Wu S., Cheng Y. et al.* Therapeutic effects of fucoidan: A review on recent studies // *Mar. Drugs.* 2019. V. 17. Art. ID 487. <https://doi.org/10.3390/md17090487>
- Menshova R.V., Shevchenko N.M., Imbs T.I. et al.* Fucoidans from brown alga *Fucus evanescens*: structure and biological activity // *Front. Mar. Sci.* 2016. V. 3. Art. ID 129. <https://doi.org/10.3389/fmars.2016.00129>
- Ragan M.A., Glombitza K.W.* Phlorotannins, brown alga polyphenols // *Progress in Phycological Research / Eds.: F.E. Round, D.J. Chapman.* Bristol, U.K.: Biopress. 1986. V. 4. P. 129–241.
- Silchenko A.S., Imbs T.I., Zvyagintseva T.N. et al.* Brown alga metabolites – inhibitors of marine organism fucoidan hydrolases // *Chem. Nat. Compd.* 2017. V. 53. № 2. P. 345–350.

**Effects of Polyphenolic Impurities in Fucoidan Samples from the Brown Alga *Fucus distichus* subsp. *evanescens* (C. Agardh) H.T. Powell, 1957 on the Embryogenesis in the Sea Urchin *Strongylocentrotus intermedius* (A. Agassiz, 1864) and on the Embryotoxic Action of Cucumarioside**

**M. I. Kiseleva<sup>a</sup>, T. I. Imbs<sup>a</sup>, S. A. Avilov<sup>a</sup>, and I. Yu. Bakunina<sup>a</sup>**

<sup>a</sup>*G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok 690022, Russia*

Effects of polyphenolic impurities on the biological activity of fucoidan samples from the brown alga *Fucus distichus* subsp. *evanescens* was studied using the model of developing embryos of the sea urchin *Strongylocentrotus intermedius*. The embryotoxic action of fucophloretol from *F. evanescens* ( $IC_{50} = 96.90 \pm 12.20 \mu\text{mol/L}$ ) and cucumarioside A<sub>7</sub> (a triterpene glycoside) from *Cucumaria frondosa* subsp. *japonica* ( $IC_{50} = 0.39 \pm 0.01 \mu\text{mol/L}$ ) was assessed. The ability of fucoidans with different levels of polyphenolic impurities to partially or completely reduce the embryotoxic action of cucumarioside A<sub>7</sub> from *C. japonica* is shown.

*Keywords:* brown algae, embryos, sea urchin, *Strongylocentrotus intermedius*, fucoidan, fucophloretol, phlorotannins, triterpene glycosides, cucumarioside A<sub>7</sub>

УДК 574.3

## ОБНАРУЖЕНИЕ НОВОГО ЛЕЖБИЩА КОЛЬЧАТОЙ НЕРПЫ *PUSA HISPIDA* (SCHREBER, 1775) (PHOCIDAE) НА ОСТРОВЕ САХАЛИН

© 2021 г. Е. Б. Лебедев<sup>1</sup>, В. Я. Кавун<sup>1</sup>, А. М. Трухин<sup>2</sup>.\*

<sup>1</sup>Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, Владивосток 690041, Россия

<sup>2</sup>Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичёва ДВО РАН, Владивосток 690041, Россия

\*e-mail: marian1312@mail.ru

Поступила в редакцию 06.07.2020 г.

После доработки 29.10.2020 г.

Принята к публикации 15.02.2021 г.

Обнаружено новое береговое лежбище кольчатой нерпы *Pusa hispida* (Schreber, 1775) на побережье о-ва Сахалин. Приведена информация о сроках сезонного использования территории лежбища тюленями и о их численности.

**Ключевые слова:** кольчатая нерпа, акиба, *Pusa hispida*, лежбище, о-в Сахалин

**DOI:** 10.31857/S0134347521040100

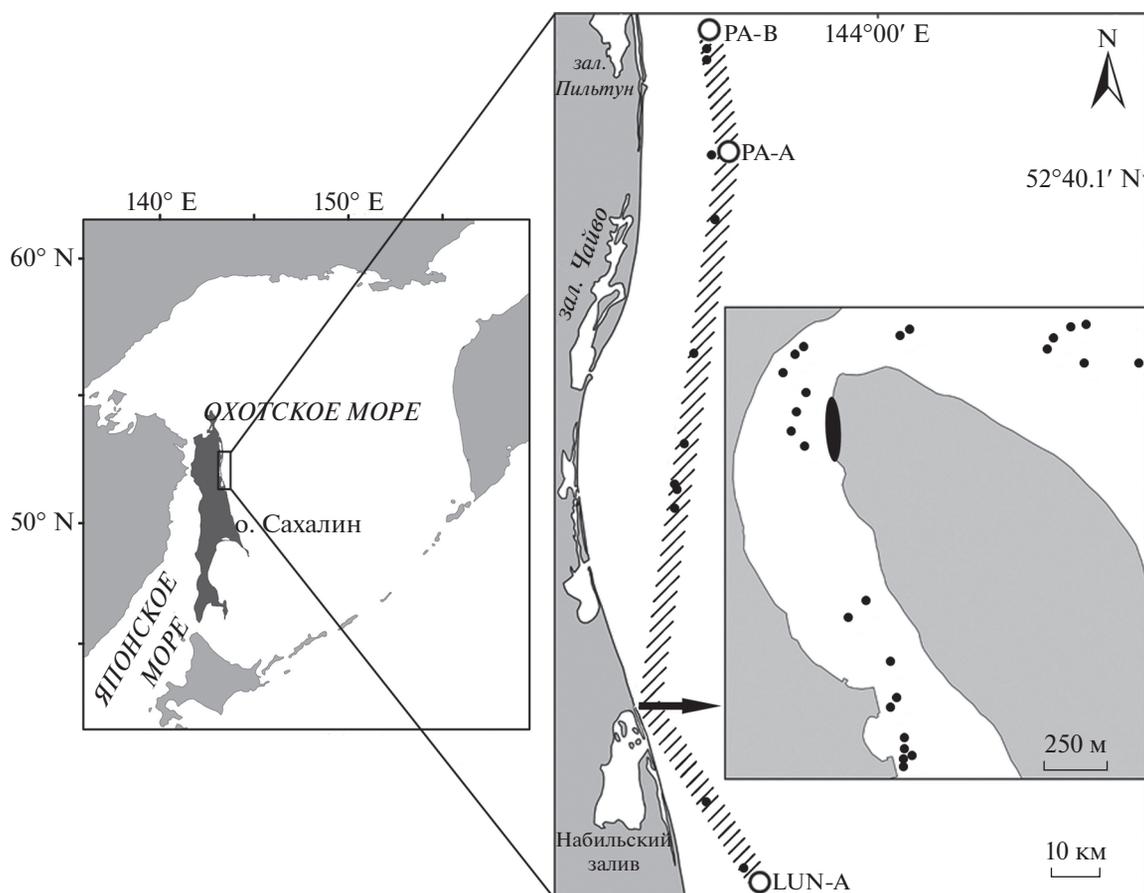
В прибрежных водах восточной части Сахалина кольчатая нерпа, или акиба *Pusa hispida* (Schreber, 1775), — обычный, а местами многочисленный вид во все сезоны года (Федосеев, 2005). В летне-осенний нагульный период кольчатые нерпы наряду с ларгой *Phoca largha* Pallas, 1811 встречаются здесь повсеместно. Однако в отличие от ларги связь с суши у акибы выражена заметно слабее. В ходе целенаправленных учётов ластоногих на береговых лежбищах о-ва Сахалин в 1970–1980-х гг. кольчатую нерпу на суше не наблюдали. Почти все обнаруженные лежбища использовались ларгой и в единичных случаях ластоногим *Erignathus barbatus* Erxleben, 1777 (Николаев, 1973; Косыгин и др., 1986; Лагерева, 1988). В морях Тихоокеанского сектора Арктики и в Беринговом море кольчатая нерпа на сушу не выходит, и до сих пор отсутствует информация об использовании нерпами лежбищ на берегах этих обширных акваторий. Слабая связь кольчатой нерпы с лежбищами характерна только для ее охотоморского подвида *Pusa hispida ochotensis*. Во время существования берегового промысла ластоногих в первой половине XX века данный вид встречался на единичных береговых лежбищах лишь в Охотском море преимущественно в зал. Шелихова и на островах Шантарского архипелага (Лунь, 1935; Огнев, 1935; Фрейман, 1935; Никулин, 1937; Наумов, 1941; Пихарев, 1941). Более поздняя информация о встречаемости этого вида на лежбищах в названных районах отсутствует.

До настоящего времени было известно о существовании на о-ве Сахалин одного берегового лежбища акибы в устье зал. Пильтун, обнаружен-

ного в 1999 г. (Трухин, 2000; Трухин, Блохин, 2003). Это лежбище является самым крупным в северной части Тихого океана и ежегодно активно используется кольчатой нерпой в безледовый период (Трухин, Пермяков, 2019). Поскольку все заливы лагунного типа по северо-восточному побережью о-ва Сахалин геоморфологически однородны (Бровко и др., 2002), в цитированных выше публикациях высказывалось предположение о возможности существования подобных лежбищ и в других заливах острова в безледовый период годового цикла. Подтверждение этой гипотезы и явилось целью нашего исследования в Набильском заливе.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Основа данной работы — визуальные наблюдения, выполненные в летне-осенние периоды (июнь–октябрь) 2008–2019 гг. группой наблюдателей за морскими млекопитающими (НММ), осуществлявшей мониторинговые исследования по программе компании “Сахалин Энерджи Инвестмент Компани Лтд.” (“Сахалин Энерджи”). Наблюдения проведены с борта судов “Polar Piltun” и “Polar Baikal”, выполнявших регулярные рейсы из порт-пункта Кайган на стационарные нефтегазодобывающие платформы “Пильтун-Астоская-А” (РА-А), “Пильтун-Астоская-Б” (РА-В) и “Лунская-А” (LUN-A) (рис. 1). Транспортировка пассажиров и грузов из порт-пункта Кайган на платформы осуществлялась строго по так называемым транспортным коридорам, выделенным



**Рис. 1.** Схема распределения кольчатой нерпы в районе летней залежки в Набильском заливе о-ва Сахалин. РА-А, РА-В и LUN-A – нефтегазовые платформы; эллипс – лежбище кольчатой нерпы; точки – места встреч с животными в Набильском заливе и транспортных коридорах судов (выделены штриховкой).

“Сахалин Энерджи” для проведения подобных операций.

В работе использовали бинокли FUJINON FMTRC-SX (7 × 50, Field 7°30′) и фотокамеру “Nikon D70s” с объективом Sigma 70–300 мм, на которую снимали тюленей, обнаруженных как на плаву, так и на суше. Фотоснимки служили вспомогательным материалом при видовой идентификации животных.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

За время исследований всего было учтено 40 кольчатых нерп на плаву (рис. 1). Как правило, это были одиночные животные, редко – небольшие группы из 2–3 особей. Большая часть нерп отмечена в прол. Асланбегова, реже эти животные встречались в пределах транспортных коридоров.

С 2014 г. в северо-западной оконечности п-ва Асланбегова отмечали периодический выход тюленей на сушу. Этот участок представляет собой галечно-песчаный пляж шириной до 20 м и дли-

ной 300 м, расположенный в координатах 51°44.38′ N, 143°18.27′ E (рис. 1, 2). Кроме ларги на лежбище периодически залежала и кольчатая нерпа. На полученных фотографиях кольчатая нерпа была обнаружена в 21 случае в количестве от 1 до 50 особей в группе. Общая численность учтённых на лежбище нерп за весь период наблюдений составила 253 особи. Данные показатели свидетельствуют о том, что в исследованном районе это сравнительно немногочисленный вид, а лежбище используется небольшими группами животных. Несмотря на то, что численность кольчатой нерпы на лежбищах в Набильском заливе намного ниже, чем на лежбище в зал. Пильтун (Трухин, Пермяков, 2019), полученная информация значима, поскольку на о-ве Сахалин зарегистрировано новое береговое лежбище этой нерпы.

В районе исследования кольчатых нерп отмечали, как правило, с июля по сентябрь, однако большинство встреч пришлось на август. В это время была зарегистрирована и наибольшая численность животных. Динамика сезонной численности кольчатой нерпы на лежбище в Набиль-



Рис. 2. Лежбище кольчатой нерпы в Набильском заливе в августе 2017 г.

ском заливе в целом сопоставима с таковой на лежбище в зал. Пильтун (Трухин, Блохин, 2003; Трухин, Пермяков, 2018). Не исключено, что низкая численность акибы в районе Набильского залива по сравнению с таковой в зал. Пильтун связана с лучшей защищенностью второго залива от внешнего антропогенного воздействия и с более благоприятными кормовыми условиями (Земнухов, 2008).

Таким образом, в настоящее время Набильский залив – одна из двух акваторий у побережья о-ва Сахалин, где функционирует береговое лежбище кольчатой нерпы, а прибрежные воды исследованного района в безледовый период года являются местом ее нагула. Обнаружение нового берегового лежбища акибы в устье Набильского залива дополняет прежние представления о ее пространственном распределении у восточных берегов о-ва Сахалин и о экологии этого вида в безледовый период годового цикла. Не исключено, что береговые лежбища кольчатой нерпы формируются и в других сходных по морфологическим характеристикам заливах лагунного типа: Луньском, Ныйском и Чайво.

#### 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 признательны сотрудникам “Сахалин Энерджи” (г. Южно-Сахалинск) А.Д. Саматову, С.А. Виноградову, С.П. Стародымову, А.В. Владимирову, работа которых в значительной степени помогла успешному выполнению данного исследования. Г.В. Думенко (Сахалинский государственный университет) способствовала решению задач, связанных с логистикой. Авторы благодарны всем наблюдателям за морскими млекопитающими, которые принимали участие в работе в период исследований. Отдельную благодарность мы выражаем экипажам судов “Polar Piltun” и “Polar Baikal” за всестороннюю поддержку и помощь при выполнении работ.

Исследования выполнены при финансовой и организационной поддержке компании “Сахалин Энерджи”.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бровко П.Ф., Микишин Ю.А., Рыбаков В.Ф. и др. Лагуны Сахалина. Владивосток: Изд-во Дальневост. ун-та. 2002. 80 с.
- Земнухов В.В. Ихтиофауна залива Пильтун (северо-восточный Сахалин): состав, экология, происхождение: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. 03.00.10. Владивосток: ИБМ ДВО РАН. 2008. 23 с.

- Косыгин Г.М., Трухин А.М., Бурканов В.Н., Махнырь А.И.* Лежбища ларги на берегах Охотского моря // Научно-исследовательские работы по морским млекопитающим северной части Тихого океана в 1984–1985 гг. М.: ВНИРО. 1986. С. 60–70.
- Лагерев С.И.* Результаты авиационного обследования береговых лежбищ тюленей Охотского моря в 1986 г. // Научно-исследовательские работы по морским млекопитающим северной части Тихого океана в 1986–1987 гг. М. 1988. С. 80–89.
- Лунь С.С.* Ластоногие Западной Камчатки (Тигильский район) // Тр. ВНИРО. 1935. Т. 3. С. 212–216.
- Наумов С.П.* Ластоногие (Pinnipedia) Охотского моря (преимущественно юго-западной части) // Уч. зап. Моск. гос. пед. ин-та. 1941. Т. 24. Вып. 2. С. 19–74.
- Николаев А.М.* О распределении настоящих тюленей у Сахалина в осеннее время // Изв. ТИНРО. 1973. Т. 91. С. 93–94.
- Никулин П.Г.* Наблюдения над ластоногими Охотского и Японского морей // Изв. ТИНРО. 1937. Т. 10. С. 49–58.
- Огнев С.И.* Звери СССР и прилежащих стран. Т. 3. Хищные и ластоногие. М.; Л.: Биомедгиз. 1935. С. 316–723.
- Пихарев Г.А.* Тюлени юго-западной части Охотского моря // Изв. ТИНРО. 1941. Т. 20. С. 61–99.
- Трухин А.М.* Кольчатая нерпа на восточном побережье острова Сахалин // Морские млекопитающие Голарктики: Материалы международ. конф. Архангельск: Правда Севера. 2000. С. 394–396.
- Трухин А.М., Блохин С.А.* Особенности функционирования поливидового лежбища настоящих тюленей (Phocidae) в районе добычи углеводородного сырья на шельфе острова Сахалин // Экология. 2003. № 5. С. 358–364.
- Трухин А.М., Пермяков П.А.* Влияние трофических условий на сезонную численность настоящих тюленей у северо-восточного побережья о. Сахалин в нагульный период // Морские млекопитающие Голарктики. Сб. науч. тр. по материалам IX междунаро. конф. 2018. С. 192–197.
- Трухин А.М., Пермяков П.А.* Динамика численности сообщества настоящих тюленей семейства Phocidae в заливе Пильтун (остров Сахалин) в неледовый период 1999 и 2014–2017 годов // Биол. моря. 2019. Т. 45. № 1. С. 3–7.
- Федосеев Г.А.* Популяционная биология ледовых форм тюленей и их роль в экосистемах Северной Пацифики. Магадан: МагаданНИРО. 2005. 179 с.
- Фрейман С.Ю.* Промысловая характеристика северной части Охотского моря // Морские млекопитающие Дальнего Востока: Тр. ВНИРО. 1935. Т. 3. С. 204–212.

## The First Record of a New Haul-Out Site of Ringed Seals, *Pusa hispida* (Schreber, 1775) (Phocidae), on Sakhalin Island

E. B. Lebedev<sup>a</sup>, V. Ya. Kavun<sup>a</sup>, and A. M. Trukhin<sup>b</sup>

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

<sup>b</sup>V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok 690041, Russia

A new coastal haul-out site of ringed seals, *Pusa hispida* (Schreber, 1775), has been found on the coast of Sakhalin Island. Information on the timing of occupancy of the haul-out territory by seals and their number during the season is provided.

**Keywords:** ringed seal, *Pusa hispida*, haul-out, Sakhalin Island

УДК 575.174.015.3

## ПОИСК ПОЛИМОРФНЫХ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ ДЛЯ МОРСКОГО ОКУНЯ *SEBASTES TACZANOWSKII* STEINDACHNER, 1880 (SEBASTIDAE)

© 2021 г. Н. М. Батищева<sup>1</sup>, \*, Вл. А. Брыков<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН,  
Владивосток 690041, Россия

\*e-mail: batishchevanata@gmail.com

Поступила в редакцию 09.12.2020 г.

После доработки 17.01.2021 г.

Принята к публикации 01.04.2021 г.

Восточный морской окунь *Sebastes taczanowskii* Steindachner, 1880 – живородящая костистая рыба, которая играет существенную роль в функционировании сублиторальных сообществ рыб и является важным видом для любительского лова (Маркевич, Гнубкина, 2015). Биология *S. taczanowskii* относительно хорошо изучена, однако сведения о его популяционной структуре отсутствуют. Проведены поиск и апробация имеющихся данных по микросателлитным локусам у близких видов рода *Sebastes* с целью оценки уровня внутривидового полиморфизма и выбора наиболее информативных локусов для дальнейших исследований. Апробированы праймеры для 19 микросателлитных локусов, из которых только пять могут быть использованы для анализа генетической изменчивости у *S. taczanowskii*.

**Ключевые слова:** микросателлиты, полиморфизм, окунеобразные

**DOI:** 10.31857/S0134347521040021

Восточный морской окунь *Sebastes taczanowskii* распространен от побережья Корейского полуострова до о-ва Сахалин (Японское море), встречается в прибрежных водах Японии, а также у южных Курильских островов (Takahashi et al., 1991; Колпаков, 2006; Nagasawa et al., 2008). К настоящему времени изучены экология *S. taczanowskii* (Haldorson, Love, 1991; Hayakawa, Munehara, 2003) и его филогенетические отношения (Asahida et al., 2004; Hyde, Vetter, 2007; Kartavtsev et al., 2009). Цель данного исследования – апробация 19 имеющихся микросателлитных локусов для использования в анализе отцовства и популяционной генетике *S. taczanowskii*.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материалом для исследования послужили 48 особей *S. taczanowskii*, пойманных в зал. Восток (зал. Петра Великого Японского моря). Геномную ДНК выделяли из мышечных тканей с помощью стандартного фенол/хлороформного метода (Asahida et al., 1996).

Стандартная разработка микросателлитных локусов для разных видов включает создание геномной библиотеки, поиск микросателлитных

последовательностей и фланкирующих их участков (Hayden, Sharp, 2001), используемых в качестве праймеров в полимеразной цепной реакции (ПЦР). Другой подход заключается в использовании праймерных участков у близкородственных видов, для которых они известны (Asahida et al., 2004). Во многих случаях данный подход оказывается успешным.

В настоящей работе мы использовали 19 микросателлитных локусов, выявленных у видов рода *Sebastes*: KSs2A, KSs3, KSs7, KSs11B, KSs16, KSs26 – у *S. schlegeli* (см.: An et al., 2009); Ssc12, Ssc23, Ssc51, Ssc69 – у *S. schlegeli* (см.: Yoshida et al., 2005); Py3-29 – у *S. schlegeli* (см.: Bai et al., 2011); Sma3, Sma5, Sma7, Sma10, Sma11 – у *S. maliger* (см.: Wimberger et al., 1999); SR 7-2, SR 7-7, SR 7-25 – у *S. rastrelliger* (см.: Westerman et al., 2005). Пять из 19 микросателлитных локусов (табл. 1) были успешно амплифицированы для *S. taczanowskii*, и был проведен анализ размеров фрагментов. Условия амплификации были адаптированы индивидуально для каждого микросателлитного локуса. К 5'-концу каждого прямого праймера была пришта последовательность ДНК фага M13, который помечали одним из четырех флуоресцентных красителей: ROX, FAM, R6G или TAMRA. Пред-

**Таблица 1.** Информативность анализируемых полиморфных локусов для *Sebastes taczanowskii*

Локус	Исходный вид/ аллельное разнообразие	nA	Ho	He	HWE	F <sub>IS</sub>
SR 7-2	<i>S. rastrelliger</i> /4	9	1.0000	0.7061	0.0000	-0.4162
SR 7-7	<i>S. rastrelliger</i> /12	9	0.9787	0.8106	0.0180	-0.2074
SR 7-25	<i>S. rastrelliger</i> /11	15	0.9792	0.8834	0.0316	-0.1084
Sma3*	<i>S. maliger</i> /5	14	0.6458	0.7890	0.0000	0.1815
Sma10	<i>S. maliger</i> /15	16	0.9583	0.8010	0.8796	-0.1965

Примечание. nA – число аллелей в локусе; Ho – наблюдаемая гетерозиготность; He – ожидаемая гетерозиготность; HWE – значимость нарушения равновесия Харди–Вайнберга, приведены только значимые значения ( $P < 0.05$ ); F<sub>IS</sub> – коэффициент инбридинга. \*Наличие нуля аллелей.

варительную оценку продукта ПЦР проводили с помощью гель-электрофореза в 1.5% агарозном геле. Электрофоретическое разделение продуктов осуществляли на автоматическом секвенаторе ABI3130 (Applied Biosystems Inc., США) с применением размерного стандарта (S450) (CO<sub>R</sub>DIS). Анализ длины фрагментов визуализировали с помощью программного пакета GeneMapper ver. 5.0 (Applied Biosystems).

Для оценки информативности выбранных микросателлитных локусов использовали стандартные статистические процедуры. Наличие нулевых аллелей, больших вставок и делеций, а также подсчет пиков заикания были протестированы с помощью MICRO-CHECKER ver. 2.2.3 (Van Oosterhout et al., 2004). Вариабельность в каждом локусе измеряли по количеству аллелей, ожидаемой и наблюдаемой гетерозиготности, равновесию Харди–Вайнберга (HWE); нарушение равновесия по сцеплению было проверено с использованием GENEPOP 4.0 (Rousset, 2008). Достоверное значение для всех критериев значимости разнообразия корректировали последовательной процедурой Бонферрони (Rice, 1989).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Все пять локусов у *S. taczanowskii* оказались полиморфными (табл. 1). Стабильная и качественная амплификация наблюдалась при использовании праймеров, разработанных для отдаленных видов рода *Sebastes*: *S. maliger* и *S. rastrelliger*. Достаточно интересно, что ни один из локусов, разработанных для близкородственного вида *S. schlegelii*, не амплифицировался у *S. taczanowskii*.

Количество аллелей в оцениваемых локусах варьировало от 9 до 16 (табл. 1). Нулевые аллели обнаружены только для локуса Sma3. Наличие в аллелях больших вставок и делеций, заикающихся пиков в каком-либо локусе не выявлено. Наблю-

даемая и ожидаемая гетерозиготность варьировала от 0.6458 до 1000 и от 0.7061 до 0.8834 соответственно (табл. 1). Отклонения наблюдаемых частот генотипов от равновесного распределения Харди–Вайнберга наблюдались по двум локусам: SR 7-2 и Sma3. Отклонения от HWE могут указывать на инбридинг или свидетельствовать об ошибках генотипирования образцов (Wigginton et al., 2005; Morin et al., 2009). Коэффициент инбридинга варьировал от -0.4162 (SR 7-2) до 0.1815 (Sma 3). Обнаруженный недостаток гетерозигот в локусе Sma3, скорее всего, вызван наличием нулевых аллелей. Локус SR 7-2 показал избыток гетерозигот и неравновесие по сцеплению.

Некоторые авторы отмечают, что аллельное разнообразие у вида, для которого разрабатывался праймер, должно быть выше (Petit et al., 2005; Selkoe, Toonen, 2006). В нашем случае мы наблюдали эту закономерность лишь у одного локуса из пяти (табл. 1).

Таким образом, с использованием праймеров, разработанных для отдаленных видов (*S. maliger*, *S. rastrelliger*), у *S. taczanowskii* выявлено пять высокополиморфных микросателлитных маркеров. Эти локусы могут быть использованы для изучения популяционно-генетической структуры у данного вида, а также для анализа генетического родства особей.

## 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 благодарны Т.Ф. Прийме, В.Д. Ягодиной, Е.И. Бондарь (Национальный научный центр морской биологии ДВО РАН), А. Татаренкову (Калифорнийский университет, Ирвин) за помощь в работе.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Колпаков Н.В. О биологии малого *Sebastes minor* и восточного *S. taczanowskii* (Sebastidae) морских окуней прибрежных вод северного Приморья // Вопр. ихтиологии. 2006. Т. 46. № 3. С. 334–344.
- Маркевич А.И., Гнубкина В.П. Особенности позднего эмбрионального развития и предличинок восточного *Sebastes taczanowskii* и малого *S. minor* морских окуней (Sebastidae) в заливе Петра Великого Японского моря // Изв. ТИНРО. 2015. Т. 183. С. 112–119.
- An H.S., Park J.Y., Kim M.-J. et al. Isolation and characterization of microsatellite markers for the heavily exploited rockfish *Sebastes schlegeli*, and cross-species amplification in four related *Sebastes* spp. // Conserv. Genet. 2009. V. 10. № 6. P. 1969–1972. <https://doi.org/10.1007/s10592-009-9870-8>
- Asahida T., Gray A.K., Gharrett A.J. Use of microsatellite locus flanking regions for phylogenetic analysis? A preliminary study of *Sebastes subgenera* // Environ. Biol. Fishes. 2004. V. 69. P. 461–470.
- Asahida T., Kobayashi T., Saitoh K., Nakayama I. Tissue preservation and total DNA extraction from fish stored at ambient temperature using buffers containing high concentration of urea // Fish. Sci. 1996. V. 62. № 5. P. 727–730. <https://doi.org/10.2331/fishsci.62.727>
- Bai C.C., Liu S.F., Zhuang Z.M. et al. Isolation and characterization of microsatellite markers for the Korean rockfish, *Sebastes schlegeli* // Genet. Mol. Res. 2011. V. 10. № 3. P. 2065–2068. <https://doi.org/10.4238/vol10-3gmr1522>
- Haldorson L., Love M. Maturity and fecundity in the rockfishes, *Sebastes* spp. // Mar. Fish. Rev. 1991. V. 53. № 2. P. 25–31.
- Hayakawa Y., Munehara H. Comparison of ovarian functions for keeping embryos by measurement of dissolved oxygen concentrations in ovaries of copulatory and non-copulatory oviparous fishes and viviparous fishes // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 2003. V. 295. № 2. P. 245–255. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(03\)00297-1](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(03)00297-1)
- Hayden M.J., Sharp P.J. Sequence-tagged microsatellite profiling (STMP): a rapid technique for developing SSR markers // Nucleic Acids Res. 2001. V. 29. № 8. Art. e43. <https://doi.org/10.1093/nar/29.8.e43>
- Hyde J.R., Vetter R.D. The origin, evolution, and diversification of rockfishes of the genus *Sebastes* (Cuvier) // Mol. Phylogenet. Evol. 2007. V. 44. № 2. P. 790–811. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2006.12.026>
- Kartavtsev Y.P., Sharina S.N., Goto T. et al. Sequence diversity at cytochrome oxidase 1 (Co-1) gene among sculpins (Scorpaeniformes, Cottidae) and some other scorpaeniformes of Russia Far East with phylogenetic and taxonomic insights // Genes Genomics. 2009. V. 31. № 2. P. 183–197.
- Morin P.A., Leduc R.G., Archer F.I. et al. Significant deviations from Hardy–Weinberg equilibrium caused by low levels of microsatellite genotyping errors // Mol. Ecol. Resour. 2009. V. 9. № 2. P. 498–504. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2008.02502.x>
- Nagasawa T., Ishida R., Sasaki M. Development of *Sebastes taczanowskii* (Scorpaenidae) in the Sea of Japan off Hokkaido with a key to species of larvae // Ichthyol. Res. 2008. V. 55. № 2. P. 124–132.
- Petit R.J., Deguilloux M.F., Chat J. et al. Standardizing for microsatellite length in comparisons of genetic diversity // Mol. Ecol. 2005. V. 14. P. 885–890.
- Rice W.R. Analyzing tables of statistical tests // Evolution. 1989. V. 43. № 1. P. 223–225.
- Rousset F. Genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux // Mol. Ecol. Resour. 2008. V. 8. № 1. P. 103–106. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01931.x>
- Selkoe K.A., Toonen R.J. Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers // Ecol. Lett. 2006. V. 9. № 5. P. 615–629. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2006.00889.x>
- Takahashi H., Takano K., Takemura A. Reproductive cycles of *Sebastes taczanowskii*, compared with those of other rockfishes of the genus *Sebastes* // Environ. Biol. Fishes. 1991. V. 30. № 1–2. P. 23–30.
- Van Oosterhout C., Hutchinson W.F., Wills D.P.M., Shipley P. MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data // Mol. Ecol. Notes. 2004. V. 4. № 3. P. 535–538. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00684.x>
- Westerman M.E., Buonaccorsi V.P., Stannard J.A. et al. Cloning and characterization of novel microsatellite DNA markers for the grass rockfish, *Sebastes rastrelliger*, and cross-species amplification in 10 related *Sebastes* spp. // Mol. Ecol. Notes. 2005. V. 5. № 1. P. 74–76. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00837.x>
- Wigginton J.E., Cutler D.J., Abecasis G.R. A note on exact tests of Hardy–Weinberg equilibrium // Am. J. Hum. Genet. 2005. V. 76. № 5. P. 887–893. <https://doi.org/10.1086/429864>
- Wimberger P., Burr J., Gray A. et al. Isolation and characterization of twelve microsatellite loci for rockfish (*Sebastes*) // Mar. Biotechnol. 1999. V. 1. № 3. P. 311–315.
- Yoshida K., Nakagawa M., Wada S. Multiplex PCR system applied for analysing microsatellite loci of Schlegel's black rockfish, *Sebastes schlegeli* // Mol. Ecol. Notes. 2005. V. 5. № 2. P. 416–418. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.00945.x>

## Search of Polymorphic Microsatellite Loci for *Sebastes taczanowskii* Steindachner, 1880 (Sebastidae)

N. M. Batishcheva<sup>a</sup> and V. A. Brykov<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*A.V. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology, Far East Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok 690041, Russia*

The white-edged rockfish *Sebastes taczanowskii* Steindachner, 1880 is a marine viviparous teleost, which plays a substantial role in the functioning of subtidal fish communities and is an important recreational fishery species (Markevich, Gnyubkina, 2015). The biology of *S. taczanowskii* has been well studied; however, there is no information about the population structure of the species. The aim of our study was to evaluate the available data on microsatellite loci from closely related species of the genus *Sebastes*, assess intra-species polymorphism, and select the most informative loci for further analysis. We screened 19 microsatellite loci, of which only five could be used to analyze the genetic variability in *S. taczanowskii*.

*Keywords:* microsatellites, polymorphism, rockfish